

UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

ANNÉE 1920-1921

N° 87

LE
PAPIER MONNAIE PORTEUR DE GERMES

THÈSE POUR LE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

Mention " Pharmacie "

Présentée et soutenue publiquement le Samedi 30 Juillet 1921

PAR

Henri-Valentin-René GIRARD

Né à Ruffec (Charente), le 20 Août 1894

PHARMACIEN DE 1^{re} CLASSE

PRÉPARATEUR D'HISTOIRE NATURELLE

Examineurs de la Thèse : { MM. MANDOU, professeur. *Président.*
BEILLE, professeur. }
CARLES, agrégé. *Juges.*
SELLIER, chargé de cours }

RUFFEC

IMPRIMERIE ET LIBRAIRIE A. PISSARD

1921

UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

ANNÉE 1920-1921

N° 87

LE
PAPIER MONNAIE PORTEUR DE GERMES

THÈSE POUR LE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

Mention " Pharmacie "

Présentée et soutenue publiquement le Samedi 30 Juillet 1921

PAR

Henri-Valentin-René GIRARD

Né à Ruffec (Charente), le 20 Août 1894

PHARMACIEN DE 1^{re} CLASSE

PRÉPARATEUR D'HISTOIRE NATURELLE



Examineurs de la Thèse : { MM. MANDOUL, professeur. *Président.*
BEILLE, professeur. }
CARLES, agrégé. *Juges.*
SELLIER, chargé de cours }

RUFFEC

IMPRIMERIE ET LIBRAIRIE A. PISSARD

1921

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE BORDEAUX

M. SIGALAS, *Doyen*

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. LANNELONGUE, BADAL, JOLIET, PITRES, GUILLAUD.

PROFESSEURS :

MM.		MM.	
Clinique interne.....	ARNOZAN.	Médecine expérimentale....	FERRÉ.
	CASSAET.	Clinique ophtalmologique....	LAGRANGE.
Clinique externe.....	CHAVANNAZ.	Clinique chirurgicale infan-	
	VILLAR.	tile et orthopédie.....	DENUCÉ.
Pathol. et thérap. générales...	CRUCHET.	Clinique gynécologique.....	BÉGOUIN.
Clinique d'accouchements...	RIVIERE.	Clinique médicale des mala-	
Anatomie pathologique.....	SABRAZES	dies des enfants.....	MOUSSOUS.
Anatomie.....	PICQUE(chargè)	Chimie biologique.....	DENIGES.
Anatomie gén. et histologie..	G. DUBREUIL	Physique pharmaceutique...	SIGALAS.
Physiologie.....	PACHON.	Pathologie exotique.....	LE DANTEC
Hygiène.....	AUCHE.	Clinique des maladies cuta-	
Médecine légale.....	VERGER.	nées et syphilitiques	W. DUBREUILH.
Physique biologique et clini-		Clinique des maladies des	
que d'électricité médicale..	BERGONIE.	voies urinaires.....	POUSSON.
Chimie.....	CHELLE.	Clinique psychiatrique.....	ABADIE.
Botanique et mat. médicale.	BEILLE.	Clinique d'ottho-rino-laryngo-	
Pharmacie.....	DUPOUY.	logie.....	MOURE.
Zoo'logie et parasitologie.....	MANDOUL	Toxicologie.....	BARTHE.

AGRÉGÉS EN EXERCICE :

	MM.		MM.	LEURET.
Anatomie.....	PRINCETEAU.	Médecine générale.....		DUPERIE.
Anatomie et embryologie....	PICQUÉ.			CREYX.
	N...			N...
Histologie.....	LACOSTE, charg	Maladies mentales.....		PERRENS.
Physiologie.....	DELAUNAY.	Médecine légale.....		LANDE.
Anatomie pathologique.....	MURATET.			GUYOT.
Parasitologie e sciences nat.	R. SIGALAS (ch.)	Chirurgie générale.....		ROCHER.
	N...			DUVERGEY.
Physique biologique et méd.	RÉCHOU.			PAPIN.
Chimie biologique et médicale	N...	Obstétrique.....		PERY.
	PETGES.			FAUGÈRE.
Médecine générale.....	CARLES.	Ophtalmologie.....		TEULIÈRES.
	MAURIAC.	Pharmacie.....		LABAT.

CHARGÉS DE COURS :

MM.		MM.
Cours de clinique dentaire.....	CAVALIÉ.	
Cours complémentaire de Thérapeutique et Pharmacologie.....	CARLES.	
Cours complémentaire de Médecine opératoire.....	VENOT.	
Cours complémentaire d'Accouchements.....	FAUGÈRES.	
Cours complémentaire d'Ophtalmologie.....	CABANNES.	
Cours complémenaire de Puériculture.....	ANDERODIAS.	
Cours complémentaire de Climatologie et Hydrologie médicale....	SELLIER.	
Cours complémentaire d'Hygiène appliquée.....	N...	
Cours complémentaire d'Analyse chimique qualitative et quantitative...	N...	
Cours complémentaire de Démonstrations préparations pharmaceutiques	LABAT.	
Cours complémentaire de Microbiologie.....	N...	
Cours complémentaire de vénéréologie.....	PETGES.	
Cours complémentaire de Pathologie interne.....	MAURIAC.	
Cours complémentaire de Pathologie externe.....	GUYOT.	

Par délibération du 5 août 1879, la Faculté a arrêté que les opinions émises dans les Thèses qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle entend ne leur donner ni approbation ni improbation.

A LA MÉMOIRE DE :

MON PÈRE

MON FRÈRE

MON ONCLE

A MA MÈRE

A MA FEMME

A MA FILLE

A MES PARENTS — A MES AMIS

A MES MAÎTRES
DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

MESSIEURS LES PROFESSEURS :
BARTHE, BEILLE, CHELLE, DENIGÈS, DUPOUY,
LABAT, SIGALAS

A MON MAÎTRE ET PRÉSIDENT DE THÈSE
MONSIEUR LE DOCTEUR HENRI MANDOUL

DOCTEUR ÈS-SCIENCES

PROFESSEUR DE ZOOLOGIE ET DE PARASITOLOGIE A LA FACULTÉ
DE MÉDECINE DE BORDEAUX

OFFICIER DE L'INSTRUCTION PUBLIQUE

LE

PAPIER MONNAIE PORTEUR DE GERMES

AVANT-PROPOS

Si notre étude au point de vue de ses résultats intéresse l'hygiène, elle représente avant tout, par la technique, un travail de Microbiologie.

La Microbiologie se présente aujourd'hui comme une science complexe. Les caractères de simplicité qu'elle offrait au moment de sa fondation par Pasteur ne sont plus qu'un souvenir. La préoccupation légitime de faire le diagnostic bactériologique, exige des connaissances très variées, aussi nous a-t-il paru d'abord téméraire d'entreprendre un tel travail.

Pour atteindre notre but nous avons trouvé auprès de M. le Professeur Mandoul avec l'affec tueuse sollicitude d'un ami, les conseils prudents et éclairés d'un Maître. Mettant au service de nos efforts, la plénitude de sa haute érudition, il n'a cessé de nous prodiguer les encouragements les meilleurs et une aide précieuse. Auprès de lui nous avons travaillé pendant plusieurs années comme préparateur d'Histoire Naturelle, puis de Zoologie et Parasitologie.

En nous chargeant pour l'année scolaire 1920-1921 des travaux pratiques de Microbiologie, destinés aux étudiants en Pharmacie, il nous a donné un gage de confiance et fourni les moyens efficaces de travailler et parfaire nos études et nous a ainsi placé dans les meilleures conditions pour entreprendre notre travail. Enfin en acceptant la présidence de notre thèse inaugurale, il nous donne une nouvelle preuve de l'intérêt qu'il nous porte et de la bienveillance qu'il a toujours su nous témoigner avec un large désintéressement. Qu'il veuille bien trouver ici l'expression de notre respectueuse gratitude et nos sincères remerciements.

A M. le Professeur Guillaud, qui le premier nous a appelé dans son Laboratoire et dont nous avons été le préparateur pendant trois années consécutives, nous adressons un souvenir respectueux et reconnaissant.

M. le Docteur Ferré, professeur de Médecine expérimentale, s'est intéressé à notre travail et nous a fourni des indications utiles avec tous les conseils de sa haute autorité. Nous sommes heureux de lui adresser ici nos très sincères remerciements.

Nos camarades, le Docteur R. Sigalas, chef des travaux pratiques de Parasitologie, et Paul Castebert, se sont intéressés à nos recherches et nous ont prêté un concours utile et amical. Ils trouveront ici notre remerciement le plus cordial.

Nous prions tous nos Maîtres de la Faculté de Médecine et de Pharmacie d'accepter avec nos respectueux hommages l'expression de notre reconnaissance pour leurs conseils et leurs leçons que nous avons eu la bonne fortune de suivre durant nos études pharmaceutiques à la Faculté de Bordeaux.

INTRODUCTION

Parmi les nombreux problèmes économiques soulevés par la guerre, la crise de la monnaie n'a pas été un des moins importants. Pressées par le besoin, les Chambres de Commerce ont dû émettre en hâte et souvent sur des papiers de qualités très inférieures des coupures divisionnaires. Les séries nouvelles se sont ensuite succédé sans que pour celà les coupures usagées et malpropres soient retirées. On peut dire que jamais la circulation de la monnaie de papier n'a été aussi intense. Les coupures de cinquante centimes, un franc et deux francs sont assurément les plus couramment employées pour les échanges monétaires de chaque jour. Ce sont elles principalement qui ont tout d'abord attiré notre attention, et nous avons vu, avec d'autres, un réel danger pour l'hygiène publique dans la circulation de ces petits papiers noirs de poussières graisseuses et dentellés par les déchirures multiples. Ce sont là, en effet, autant de véritables réservoirs de germes dangereux, qui changeant à tous instants de propriétaires plus ou moins soigneux, servent d'agents vecteurs aux microbes et malpropretés et portent, du malade au sujet sain, le virus redoutable des affections les plus graves.

Nous ne sommes pas les premiers à nous être préoccupés de la question ; nombreux sont les hygiénistes qui déjà ont cherché à attirer l'attention des pouvoirs compétents sur l'état lamentable et l'aspect repoussant de certaines coupures ; nombreux sont également, et parmi eux des plus autorisés, les bactériologues qui ont indiqué dans divers Bulletins et Périodiques quantité d'espèces microbiennes saprophytes et pathogènes vivant à l'état libre sur le papier.

Cette question n'est pas restée dans le domaine pur du laboratoire. Tout récemment, elle vient d'être agitée par la grande presse, ce qui prouve une fois de plus l'intérêt qu'elle occupe dans l'hygiène publique. Plus modestement, dans notre sphère, depuis plus d'une année nous avons accumulé des matériaux, fait des recherches, multiplié les expériences dont nous apportons aujourd'hui les résultats sans prétendre cependant avoir complètement épuisé ce sujet.

Nous ne nous sommes pas contentés dans ce travail de continuer une nomenclature et d'ajouter seulement à la liste déjà longue des bactéries caractérisées de nouvelles espèces. En effet, on peut affirmer a priori que toutes les espèces microbiennes peuvent se rencontrer sur le papier monnaie. Nous avons voulu pousser plus loin l'analyse et rechercher leurs conditions de vie, de résistance, et de transmission. Par exemple le petit billet que nous conservons dans un carnet sous nos vêtements ne présente-t-il pas un milieu favorable à la conservation des microbes qui l'ont souillé lors de son séjour chez certains individus malpropres ou malades ; favorise-t-il leur destruction ou leur développement ? Par quoi est représentée exactement la flore du papier monnaie ? A côté des bactéries libres de l'air ou du sol ne trouverons-nous pas sur ces papiers déchirés et recollés avec des papiers gommés imprégnés de salive la flore de la bouche, et dans un autre ordre la flore de l'intestin. A quel état de vitalité trouverons-nous les microbes, etc. Ce sont là autant de problèmes que nous avons cherché à résoudre par tous nos moyens de laboratoire et d'étude.

A notre connaissance il n'a pas été fait de travail d'ensemble sur cette question. Des travaux fragmentaires ont paru à diverses époques dans des périodiques différents.

Comme dans toute recherche microbiologique nous avons fait des analyses quantitatives et qualitatives ; la numération des microbes nous a paru intéressante comme indicateur d'infection ; l'analyse qualitative, c'est-à-dire l'identification

de ces espèces. nous permet de dégager au milieu des bactéries banales, les formes pathogènes particulièrement intéressantes pour l'hygiéniste. Cette identification comprend une série de recherches, cultures et inoculations aux animaux de laboratoire.

Poussant plus loin nos investigations, nous avons recherché les conditions de milieu offertes par le revêtement septique qui enduit le papier ; nous avons pensé que nous trouverions peut-être là une explication satisfaisante concernant la vitalité et la conservation du pouvoir pathogène des espèces nocives.

Si nos efforts aboutissent, puissions-nous contribuer pour notre bien modeste part à défendre la santé publique contre ces agents invisibles et redoutables : les microbes.



CHAPITRE I

Recherches Microbiologiques

§ 1. — ANALYSE QUANTITATIVE

NUMÉRATION DES GERMES

La numération des germes est un indicateur d'infection et permet de comparer la souillure des papiers monnaie avec certains éléments libres du milieu extérieur, l'air, l'eau.

Des recherches un peu antérieures aux nôtres et dont nous n'avons eu connaissance qu'après nos expériences ont donné les résultats que nous allons tout d'abord indiquer.

Voici comment l'auteur⁽¹⁾ a procédé :

« Un quart de centimètre carré de papier monnaie prélevé
« dans le milieu d'un billet de cinquante centimes est dilacéré
« et réduit en minces parcelles au moyen d'une petite pince
« pointue, dans un verre de montre. Cette poussière de papier
« est ensuite mise en contact dans un tube à essai avec cinq
« centimètres cubes d'eau physiologique. Le tube est fermé
« par un bouchon de caoutchouc (la pince, le verre de mon-
« tre, le tube à essai, son bouchon et l'eau physiologique
« avaient été au préalable soigneusement stérilisés). Le tout
« est agité pendant cinq minutes pour que toutes les parcelles

(1) DURAND. Bactéries et Papiers Monnaie. *Bulletin des Sciences Pharmacologiques*, n° 7, juillet 1920, page 357.

« de poudre prennent bien contact avec le liquide, et que les
« bactéries ou leurs formes de résistance déposées sur les
« divers éléments soient libérées. Le tube est laissé ensuite
« au repos pendant deux ou trois minutes ; les parcelles lour-
« des tombent au fond, les autres gagnent la partie supé-
« rieure et le liquide de séparation, qui est ordinairement
« louche, contient en suspension la plus grande partie des
« germes primitivement fixés sur le papier.

« Au moyen d'une pipette stérilisée de même section que
« le compte-goutte normal, j'ai prélevé une partie du liquide
« louche, puis ensemencé cinq gouttes de ce liquide (corrè-
« pondant à 0 gr. 25 d'eau physiologique) dans une boîte de
« Pétri contenant de la gélatine à 20 0/0. La boîte enveloppée
« dans du papier à filtrer a été abandonnée à la température
« ordinaire pendant dix jours. Au bout de ce temps j'ai pu
« effectuer les numérations.

« Résultats obtenus : Trois opérations dans trois billets
« différents ont été ainsi faites et c'est la moyenne des chiffres
« obtenus que je vais donner.

« Les cinq gouttes ensemencées m'ont donné une moyenne
« de quatorze colonies microbiennes. Vingt gouttes, soit un
« centimètre cube représentent 56 colonies, cinq centimètres
« cubes de liquide de lavage représentant un quart de centi-
« mètre carré de billet = 280 colonies ; un centimètre carré
« de billet contient donc 1.120 germes microbiens. Pour un
« billet de cinquante centimes des Armées d'une superficie de
« 62 centimètres carrés cela fait 69.440 germes microbiens.
« Pour un billet de un franc de 68 centimètres carrés = 76.720
« germes.

« Examinées au microscope les différentes colonies micro-
« biennes ainsi trouvées se composent de :

Bacilles : 10

Cocci : 4

Levures : 2

Sarcine : 1

Voici de notre côté comment nous avons procédé :

Nous avons prélevé dans différents billets, tantôt sur le bord, tantôt dans la partie centrale, un fragment de papier mesurant exactement un demi-centimètre carré. Ce fragment de papier est dilacéré avec des aiguilles dans une cupule de verre. La poussière ainsi obtenue est introduite dans un tube à essai contenant cinq centimètres cubes de sérum physiologique. Le tube est agité cinq minutes. Tous les instruments (pince, aiguilles, cupule, sérum, etc.), ont été parfaitement stérilisés au préalable.

Après quelques minutes de repos on remarque trois couches distinctes dans le tube à essai : la couche supérieure est formée par les minimes parcelles des fibres du papier, la couche médiane est un liquide louche légèrement émulsionné, la couche inférieure est constituée par les parties lourdes (poussières, sables, malpropretés diverses).

Avec un compte gouttes normal de un millimètre de diamètre intérieur et trois millimètres de diamètre extérieur, nous prélevons une certaine quantité du liquide louche formant la partie médiane de la préparation et nous ensemençons en les incorporant au milieu *cinq* gouttes de ce liquide sur chacun des milieux suivants :

1° Une gélatine fondue au voisinage de son point de solidification en boîte de Pétri, que nous laissons à la température ordinaire à l'abri de toutes souillures.

2° Une gélose fondue au voisinage de son point de solidification en boîte de Pétri, que nous portons à l'étuve à 37°.

Nous ensemençons de même et dans les mêmes conditions, une gélatine et une gélose fondues avec *deux* gouttes de liquide ; ceci afin d'avoir une dilution plus grande.

Les boîtes sont examinées journallement et nous notons chaque fois les colonies développées. Cela pendant dix jours.

Voici les résultats obtenus avec trois billets différents dans chaque expérience.

EXPÉRIENCE 1

Nous ensemençons cinq gouttes de liquide.

Jours	Gélatine à la Température ordinaire						Gélose à 37°		
	Colonies non liquéfiantes			Colonies liquéfiantes			1	2	3
	Billet 1	Billet 2	Billet 3	1	2	3			
1	0	0	0	0	0	0	4	5	2
2	9	4	2	0	0	0	5	8	10
3	12	10	12	0	0	0	8	15	14
4	13	16	20	1	0	0	11	16	18
5	18	20	30	2	1	1	13	17	21
6	20	23	34	2	1	2	15	20	23
7	23	38	40	3	1	4	∞	22	25
8	24	40	46	4	2	6	∞	∞	30
9	28	46	51	4	3	9	∞	∞	∞
10	29	49	53	5	3	13	∞	∞	∞

Ce tableau nous montre que pour *cinq* gouttes de liquide ensemencé nous obtenons :

1° Sur milieu gélatine une moyenne de 50 colonies.

2° Sur milieu gélose la numération n'est plus possible à partir du sixième jour, d'où la nécessité d'opérer avec une dilution plus grande.

Nous rapportant aux résultats indiqués par le milieu gélatine nous dirons :

V gouttes ou 0 gr. 25 de liquide donnent.	50 colonies.
XX gouttes ou un cent. cube donnent...	200 »
5 c. cubes ou un demi c. carré de billet.	1.000 »
Un centimètre carré de billet.....	2.000 »

EXPÉRIENCE 2

Nous ensemençons deux gouttes de liquide.

Jours	Gélatine à la Température ordinaire						Gélose à 37°		
	Colonies non liquéfiantes			Colonies liquéfiantes			1	2	3
	Billet 1	Billet 2	Billet 3	1	2	3			
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	2	0	0	0	0	0	3	1	1
3	3	1	1	0	0	0	4	1	2
4	5	4	1	0	1	1	5	2	4
5	12	6	3	0	1	1	8	7	5
6	14	7	6	2	1	2	9	8	7
7	15	10	7	2	2	2	11	10	12
8	15	11	10	3	2	3	13	11	12
9	16	14	12	3	2	4	14	13	13
10	18	14	13	4	2	4	16	13	15

Dans cette expérience nous voyons que pour *deux* gouttes de liquide ensemencé, nous obtenons :

1° Sur milieu gélatine une moyenne de 18 colonies.

2° Sur milieu gélose une moyenne de 14 colonies.

En raisonnant comme il a été indiqué précédemment nous voyons que sur milieu gélatine, un centimètre carré de billet représente 1.800 colonies, et sur milieu gélose, un centimètre carré de billet représente 1.400 colonies.

Sur gélatine, cinquante colonies se composent :

Cocci 22

Bacilles 20

Moisissures 6

Levures 2

Voici pour fixer les idées quelques chiffres concernant différentes coupures de notre région :

Bordeaux, billet de cinquante centimes.	90.000 colonies.
Bordeaux, billet de un franc	108.000 »
Bayonne, billet de un franc.....	120.000 »
Gers, billet de cinquante centimes....	132.000 »
La Rochelle, billet de cinquante cent..	164.000 »

Nos résultats, sans être comparables à ceux relatés par l'auteur préalablement cité, s'en éloignent dans une mesure relativement faible. Les différences, en plus des hasards des souillures, peuvent provenir des techniques qui ne sont pas les mêmes dans les deux cas. M. Durand n'a pratiqué du reste ses ensemencements que sur gélatine.

Signalons que les chiffres obtenus sont de même ordre que ceux indiqués par Miquel ⁽¹⁾ dans les eaux qu'il qualifie de qualité impure.

§ 2. — ANALYSE QUALITATIVE

CARACTÉRISATION DES ESPÈCES

Dans une étude sommaire parue tout récemment et que nous reproduisons textuellement, Durand ⁽²⁾ signale comme espèces microbiennes représentées sur le papier monnaie, les éléments suivants :

Bacilles du type Mesentericus.

Les cocci banals de l'air.

Bacilles du type Proteus.

Bacille du groupe Coli, paratyphique

et conclut à la représentation très nette de la flore intestinale.

(1) MIQUEL, *Manuel pratique anal. bact. des eaux*, page 129. Paris 1891.

(2) Bactéries et Papier Monnaie. *Bull. Sc. Pharmac.* Juillet 1920, n° 7, page 357.

L'auteur ne nous indique que les conclusions de son travail. Il y aurait eu intérêt, pensons-nous, à connaître les résultats de ses expériences avec plus de précision. Il est bien évident qu'il n'y a rien de banal en bactériologie. Les bactéries saprophytes qui vivent normalement dans les poussières de l'air, présentent toutes un intérêt que nous avons toujours utilité à connaître.

Nous avons étendu nos recherches à un plus grand nombre d'espèces bactériennes et nous nous sommes attachés à déceler des espèces hautement différenciées, telles que le Bacille de Koch, les spirochètes, les moisissures, etc.

Voici d'abord la technique que nous avons suivie :

Nous avons prélevé des échantillons d'un très grand nombre de coupures variées en choisissant de préférence les plus usagées.

Nous avons fait macérer à température de la glacière, une certaine quantité de ces billets déchiquetés, pendant douze heures ; puis avec le fil de platine stérile nous avonsensemencé en séparations microbiennes sur de la gélose solide en boîte de Pétri. Nous avons également porté une certaine quantité de cette macération dans la gélose et la gélatine liquéfiées et maintenues à une température voisine du point de solidification, puis solidifiées après diffusion aussi homogène que possible dans le liquide. Nous avons aussi pratiqué des ensemencements pour cultures en bouillon.

Nous nous bornerons simplement à exposer les expériences qui nous ont paru les plus typiques et auxquelles nous pouvons rapporter toutes les autres.

Voici par exemple quelques-uns de nos résultats groupés d'après leur origine.

1. Billet de cinquante centimes de Toulouse
N° 87.371. Série 1.

Cette coupure se présente couverte de crasse grasse et noirâtre. Elle n'est ni déchirée ni recollée avec du papier gommé. Elle est examinée aussitôt retirée de la circulation.

Nous introduisons le papier dans une cupule de verre stérilisée et à l'aide d'aiguilles stérilisées nous la réduisons en fines parcelles. Celles-ci sont reprises avec du sérum physiologique stérile et nous faisons ainsi une sorte d'émulsion parfaitement homogène. Après avoir laissé au repos quelques minutes, nous ensemençons cette émulsion ainsi obtenue sur chacun des milieux suivants :

1° Une gélose solide en boîte de Pétri. — Pour cela nous pratiquons avec le fil de platine légèrement souillé avec le liquide à étudier, un nombre aussi grand que possible et ne chevauchant pas, de stries parallèles en surface de notre milieu, sans recharger le fil. La boîte est portée à l'étuve à 37°. Nous ensemençons de même trois tubes de gélose inclinée que nous portons également à l'étuve à 37°.

2° Une gélatine fondue en boîte de Pétri. — Au moment de la solidification, un peu avant que la gélatine se prenne en masse compacte, nous lui incorporons, en les y diffusant, quelques gouttes de notre émulsion au moyen d'une pipette Pasteur stérile. Nous laissons ce milieu ensemencé, à la température de 18° à 20°.

3° Dans un tube de bouillon peptoné nous introduisons un fragment de la coupure mise en expérience après l'avoir grossièrement dilacérée.

Nous portons le tube à l'étuve à 37°.

4° Sur sérum solidifié. — Avec le fil de platine chargé du liquide émulsionné, nous ensemençons trois tubes en pratiquant quelques minces stries parallèles, sans recharger le fil. Nous mettons les tubes ensemencés à l'étuve à 37°.

Les différentes cultures sont examinées après douze, vingt-quatre et quarante-huit heures, trois, cinq et huit jours.

Les différentes colonies sont repiquées après avoir constaté leur pureté.

Sur cette coupure nous avons déterminé les espèces suivantes :

1° *Le Staphylococcus pyogenes albus* Rosenbach. — Sur gélose à 30°-35° il se développe de petites taches blanches qui confluent en une large couche blanc mat. La culture devient visqueuse.

Sur gélatine en piqure le milieu est liquéfié vers le huitième jour. Il se forme une cupule de liquéfaction pleine d'un liquide blanchâtre, puis peu à peu la liquéfaction progresse ; la gélatine liquéfiée est blanche laiteuse.

L'examen des frottis montre des cocci en grappe, prenant le Gram.

Sur bouillon, le milieu se trouble rapidement, il ne se forme pas de pellicule. Après vingt-quatre heures, l'examen des frottis prélevés directement dans le liquide, montre des diplocoques gros, parfaitement sphériques, prenant le Gram. Ensemencé du bouillon sur gélose et gélatine, nous obtenons l'aspect des cultures et les caractères microscopiques du Staphylocoque blanc.

2° *Le Bacillus Coli communis* Escherisch. — Sur gélatine en boîte de Pétri à 18°-20°, après vingt-quatre heures, les colonies sont déjà perceptibles. Vers le quatrième jour elles apparaissent bleutées, d'aspect muriforme, opaque. La gélatine n'est pas liquéfiée. Sur gélatine repiquée, le milieu ne se liquéfie pas.

Sur gélose inclinée, la culture se présente blanche, crémeuse, opaque.

Sur sérum, la culture présente le même aspect que sur gélose.

Sur bouillon phéniqué, le milieu se trouble rapidement, on note en surface une mince pellicule. Il se dégage une odeur

fécaloïde très accentuée. La réaction de l'indol est positive à partir du troisième jour.

Sur lait tournesolé, après vingt-quatre heures, le lait est décoloré ; il rougit après quarante-huit heures et coagule le troisième jour.

L'examen des frottis, après coloration, montre de courts bâtonnets de 2 μ à 3 μ , se décolorant par la méthode de Gram. Ceux-ci se montrent parfois groupés en amas peu denses.

3° *Le Bacillus Mesentericus vulgaris* Flugge. — Sur gélose nous obtenons une pellicule grise, mate, ridée, très adhérente.

Sur sérum, la culture ressemble à celle obtenue sur gélose, mais le milieu est liquéfié.

Sur gélatine en boîte de Pétri, les colonies se présentent jaunâtres la partie centrale étant plus sombre que la périphérie. Les bords paraissent irréguliers ; cet aspect est dû à des petits filaments radiaires qui gagnent peu à peu tout le milieu. La gélatine est liquéfiée.

Sur pomme de terre, la culture revêt un aspect bien typique. On remarque une pellicule épaisse festonnée, grise, laissant perler de petites gouttes d'eau sur les bords. La culture envahit rapidement tout le milieu et même pénètre à l'intérieur.

L'examen microscopique des frottis montre des bacilles mesurant de 2 μ à 4 μ . Ces mêmes éléments apparaissent en longs filaments ou en chaînettes, parfois même agglutinés. On note la présence de spores. Les bacilles prennent le Gram.

4° Les tubes de sérumensemencés comme il a été indiqué précédemment, ne nous ont pas permis de caractériser le bacille de la Diphtérie.

II. Coupures divisionnaires de cinquante centimes émises par la Chambre de Commerce de Bordeaux (1)

Sur ces coupures, nous avons pu identifier quelques espèces microbiennes.

Lesensemencements sur gélose en séparation, nous ont donné après vingt-quatre heures à l'étuve à 37°, plusieurs sortes de colonies distinctes. Celles-ci sur gélose repiquée, nous ont permis de caractériser :

1° *Le Staphylococcus pyogenes albus* Rosenbach.

Sur gélose inclinée, après vingt-quatre heures, les cultures se présentent en taches rondes légèrement humides, grisâtres. Le centre déprimé est plus foncé, et entouré d'une zone claire. Après quarante-huit heures la culture est visqueuse et les taches confluent en une nappe qui devient rapidement crémeuse.

L'examen des taches et de la pellicule crémeuse, montre des cocci, en amas irréguliers, véritables grappes, restant colorés par la méthode de Gram.

Sur gélatine, le milieu est liquéfié le dixième jour.

2° *Le Micrococcus Tetragnus* Gaffky.

Sur gélose la culture se présente blanche, un peu gluante et s'étirant au fil.

Sur gélatine en piqure, on remarque en surface un disque blanc, le milieu n'est pas liquéfié.

Sur bouillon, le milieu se trouble d'abord, puis s'éclaircit ; il se forme un dépôt abondant, légèrement visqueux.

L'examen des différentes cultures, permet de reconnaître des cocci parfaitement arrondis, de 1 μ de diamètre, groupés

(1) Nous ne donnons pas les numéros de ces billets, leur mauvais état ne nous ayant pas permis de les déchiffrer.

en tétrades régulières, restant colorés par la méthode de Gram. L'examen des différentes cultures âgées, montre les tétrades plus irrégulièrement disposées. Ceci n'a rien qui puisse nous étonner car nous savons que le Tétragène ne présente ses éléments groupés régulièrement que dans les cultures jeunes ou dans les produits pathologiques, provenant directement de l'organisme (1).

3° *Le Bacillus Coli Communis* Escherisch.

Sur bouillon phéniqué nous avons constaté un trouble abondant et rapide, puis un dépôt floconneux avec éclaircissement du bouillon et dégagement de bulles gazeuses gagnant la surface du liquide.

Sur gélose en stries, après vingt-quatre heures, on constate des bandes épaisses, blanches, qui confluent et gagnent toute la surface du milieu formant alors une culture opaque au centre et à contours irisés et transparents.

Sur milieu d'Endo (2), en boîte de Pétri après quarante-huit heures nous avons obtenu des petites colonies à contours rosés; abandonnée à la température ambiante, la teinte se fonce et gagne toute la gélose, celle-ci reste ensuite colorée. La coloration du milieu ainsi obtenue est très stable. Dans notre laboratoire nous conservons depuis plus de six mois des cultures parfaitement colorées.

Sur lait tournesolé, le milieu se décolore au bout de vingt-quatre heures, rougit faiblement après quarante-huit heures et le troisième jour rougit et coagule.

La recherche de l'indol par la réaction de Legal est positive (3).

L'examen microscopique des cultures sur gélose, gélose

(1) MACÉ. *Traité de Bactériologie*, page 384.

(2) Gélose, fushine, bisulfite de soude.

(3) Cette méthode, qui n'est pas autre chose que la réaction de Legal appliquée par Denigès à la recherche de l'indol nous a paru d'une sensibilité plus grande que les méthodes ordinaires.

Endo, montre des éléments en bâtonnets courts de $2\ \mu$ à $3\ \mu$, les extrémités arrondies, réunis en amas peu denses, se décolorant par la méthode de Gram.

4° Un fragment de billet introduit dans un tube de bouillon peptoné, nous a donné une culture présentant en surface une pellicule épaisse et sans solution de continuité.

Les frottis prélevés dans le fond du tube nous ont montré deux sortes d'éléments ayant l'apparence de *Leptothrix*.

Les uns prenant le Gram, en filaments légèrement sinueux, mesurant de $20\ \mu$ à $30\ \mu$ de long et de $1\ \mu$ de large répondant aux caractères morphologiques du « *Leptothrix buccalis* » (Ch. Robin). Les autres, ne prenant pas le Gram en filaments droits de $1\ \mu$ de large et une longueur de $15\ \mu$ à $20\ \mu$, les extrémités légèrement renflées en massues. Le filament est fragile et se ségmente facilement en éléments trapus. Ceux-ci apparaissent plus larges que le filament et se groupent en amas irréguliers.

Cette forme nous a paru comparable au « *Leptothrix astéroïde* » décrit par J. Mendel (1). Nous n'avons pu toutefois l'identifier d'une façon précise ne l'ayant pas obtenu en culture pure.

III. Billet de un franc émis par la Chambre de Commerce d'Angoulême N° 31.201-A. Série 5.

Ce billet se présente en mauvais état, déchiré et recollé plusieurs fois, notamment avec un timbre-poste.

Sus ce billet nous avons pu caractériser d'une façon particulièrement nette le *Bacillus Subtilis* Ehrenberg.

Sur bouillon peptoné après vingt-quatre heures, on note un trouble très apparent ; le deuxième jour, on voit en surface une pellicule épaisse, plissée, élastique, jaune grisâtre,

(1) J. MENDEL. *Bull. Soc. Biol.* Mai 1908, page 471.

qui se dessèche rapidement après trois jours, mais sans se rompre. Les frottis montrent des bacilles longs, cylindriques, faiblement arrondis aux extrémités, mesurant de $4\ \mu$ à $5\ \mu$ disposés en chaînettes. Ils présentent une partie centrale prenant fortement le colorant et une autre plus claire. Ces bacilles prennent tous le Gram.

Sur gélatine, lentement le milieu est liquéfié, il se forme une culture mince et blanchâtre.

Sur gélose, la culture se forme en voile blanc laiteux, qui se ride et reste transparent. Les frottis montrent des bacilles prenant le Gram, analogues en tous points à ceux caractérisés dans la culture sur bouillon. Toutefois on remarque quelques bâtonnets plus rigides et des spores libres et isolées.

IV. Billet de cinquante centimes
émis par la Chambre de Commerce de Lyon
N° 17.841

Ce billet se présente déchiré et recollé avec du papier gommé, malpropre et recouvert d'un enduit de poussière graisseuse.

Sur ce billet nous avons pu caractériser :

1° *Le Staphylocoque blanc*. — Sur gélose, il se développe rapidement une pellicule blanche, crémeuse, s'étendant largement sur le milieu. Les frottis montrent une abondance extrême de « Staphylocoques » en grappes épaisses et serrées. Une culture de dix jours devient granuleuse et se dessèche ; dans les frottis les cocci semblent moins serrés et plus petits.

Sur gélatine en piqure, le milieu n'est pas liquéfié.

2° *Le Micrococcus Prodigiosus* Ehrenberg.

Cette bactérie se présente avec les caractères suivants :

Sur gélose, la culture apparaît le long de la strie sous forme d'une bande d'aspect muqueux à reflet mat. A l'étuve à 25° elle présente quelques points rosés, qui gagnent peu à

peu toute la culture. A 35° la coloration disparaît ainsi que dans les cultures âgées.

La gélatine est liquéfiée le deuxième jour.

Les cultures sur sérum présentent l'aspect des cultures sur gélose.

Sur bouillon, le milieu se trouble d'abord ; on remarque ensuite un dépôt sur le fond du tube. Le bouillon apparaît légèrement rosé.

L'examen microscopique des différentes cultures par la méthode de Gram, montre des bacilles très courts, ovalaires, de 4 μ de diamètre environ. Les bacilles ont tendance à prendre la forme cocci. Ils ne prennent pas le Gram.

*V. Billet de cinquante centimes
émis par la Chambre de Commerce de Nice
Série 6*

Cette coupure est en très mauvais état, déchirée, déchiquetée sur les bords et recollée avec du papier gommé. Elle est, en outre, malpropre et graisseuse.

Un fragment de ce billet est ensemencé sur bouillon ordinaire. Après 48 heures, le bouillon présente un trouble opaque ; en surface on remarque une pellicule épaisse, plissée, élastique, gris jaunâtre. On ne note pas de dépôt sur le fond du tube.

Le bouillon est ensemencé sur gélose en séparation. On obtient des colonies blanches qui brunissent en vieillissant. Repiquée sur gélose en stries, la culture est blanche.

Sur gélatine en piqure, le milieu est liquéfié lentement en entonnoir.

Sur gélatine en stries, les colonies sont rondes, grisâtres, le centre apparaissant plus foncé que les bords.

L'examen microscopique des différentes cultures, montre des bacilles gros et trapus, mesurant 2 μ de large et de 5 μ à

10 μ de long, prenant le Gram, en forme de navette avec condensation protoplasmique aux extrémités ; le centre, vacuolaire, prend fortement le colorant. Les bacilles tendent à se réunir en chaînettes strepto-bacillaires. Cette espèce répond aux caractères du type *Megaterium* de Bary.

VI. Billet de un franc de Paris

Ce billet d'aspect propre et ne présentant aucune déchirure, ni détérioration, nous a permis de caractériser quelques espèces.

1° *Le Staphylococcus pyogenes aureus* Rosenbach.

Sur gélose en stries, la culture apparaît très caractéristique avec son pigment jaune orange.

Sur bouillon, après quarante-huit heures on remarque un dépôt coloré jaune orange, le milieu reste trouble.

La gélatine est liquéfiée le troisième jour.

L'examen microscopique des différents milieux montre des cocci en grappes prenant le Gram nettement caractéristiques.

2° *Le Staphylococcus pyogenes albus* Rosenbach.

Sur gélose en séparation, les colonies apparaissent après vingt-quatre heures en petites taches rondes gluantes.

Repiquées sur gélose en stries, la culture apparaît sous forme d'une nappe blanche crémeuse. La culture ne présente aucune pigmentation même après dix jours à l'étuve à 37°, et après plusieurs repiquages.

Le bouillon se trouble rapidement et présente un dépôt non coloré après quarante-huit heures.

La gélatine est liquéfiée le dixième jour. L'examen microscopique montre des cocci en grappes serrées prenant le Gram.

3° *Le Bacillus Coli communis* Escherisch.

Sur gélose la culture est peu caractéristique : elle apparaît blanche, crémeuse, opaque.

La gélatine n'est pas liquéfiée.

Sur lait tournesolé, le milieu rougit et coagule.

Sur sérum la culture est semblable à celle sur gélose.

Sur bouillon phéniqué on note un trouble rapide, puis un dépôt floconneux au fond du tube. Le milieu exhale une odeur fétide.

Sur bouillon lactosé carbonaté on remarque un dégagement gazeux abondant.

Sur eau peptonée, de même que sur bouillon la réaction de l'indol est positive après quarante-huit heures.

L'examen microscopique des différents milieux montre des éléments en courts bâtonnets, fins isolés le plus souvent, mais aussi parfois en amas peu denses.

Ces bacilles se décolorent par la méthode de Gram.

VII. Billet de un franc de Bayonne

Ce billet se présente malpropre et grassex ; sans être ni déchiré ni recolé.

Nous avons caractérisé sur cette coupure :

Le Staphylococcus pyogenes aureus Rosenbach.

Sur gélose en séparation, les colonies apparaissent le troisième jour en petites taches rondes légèrement teintées en jaune doré.

Sur gélose en stries repiquées elles se présentent avec leur pigment jaune orange tout à fait caractéristique.

La gélatine est liquéfiée le troisième jour. Le bouillon ensemencé se trouble rapidement. Il se forme un dépôt de plus en plus abondant, coloré jaune orange.

Les frottis prélevés dans ces différentes cultures montrent les cocci en amas très denses, restant colorés par la méthode de Gram.

2° *Le Proteus vulgaris* Hauser.

Sur gélatine en plaque nous avons obtenu une culture tout à fait caractéristique.

Après vingt-quatre heures on voit des petites colonies rondes grisâtres. Après quatre jours, la colonie apparaît opaque au centre, blanchâtre, entourée d'un anneau plus clair d'où partent des prolongements radiés en tire-bouchons et en chapelets. Ces prolongements semblent se détacher de la colonie.

Le milieu est liquéfié et dégage une odeur putride.

Sur gélatine en piqure la liquéfaction est rapide.

Sur gélose, on remarque une couche muqueuse grisâtre très envahissante.

Le bouillon se trouble et dégage une odeur putride et désagréable. La réaction de l'indol est négative après trois jours.

L'examen microscopique des frottis prélevés dans les différents milieux montre un bacille assez polymorphe.

Les éléments se présentent en bacilles courts de 1μ à 2μ , ou bien en cocobacilles et parfois même en formes allongées.

Ces éléments ne prennent pas le Gram.

VIII. Billet de cinquante centimes de Tarbes

Ce billet est retiré de la circulation en bon état.

Nous préparons avec ce billet une émulsion dans le sérum physiologique selon la technique déjà indiquée. Cette émulsion estensemencée sur gélose solide en boîte de Pétri. Nous pratiquons avec le fil de platine souillé par l'émulsion de nombreuses stries parallèles en surface de la gélose et portons le milieuensemencé à l'étuve à 37° .

Après quarante-huit heures nous observons sur ce milieu trois sortes de colonies parfaitement distinctes, n'échangeant entre elles aucun rapport. Après nous être assuré par l'examen microscopique de leur pureté nous repiquons chaque colonie isolément sur gélose inclinée, gélatine en piqure, bouillon, pomme de terre.

Dans cette expérience nous pouvons caractériser les trois variétés de Staphylocoques :

1° *Staphylococcus pyogenes aureus* Rosenbach.

2° *Staphylococcus pyogenes albus* Rosenbach.

3° *Staphylococcus pyogenes citreus* Passet.

Ces trois variétés de Staphylocoques se présentent dans les cultures avec les caractères suivants :

1° Sur gélose en stries le Staphylocoque doré forme un enduit peu épais, d'apparence gluante ; la coloration jaune orange apparaît nettement le deuxième jour et semble atteindre son maximum d'éclat vers le cinquième.

Le Staphylocoque blanc se présente après vingt-quatre heures en petites taches rondes gluantes, celles-ci confluent ensuite en une nappe blanche crémeuse à contours inégalement réfringents.

Le Staphylocoque citrin apparaît après vingt-quatre heures sous forme de petites taches jaune clair. Dès le deuxième jour les taches s'étendent sur le milieu et la teinte se fonce. Elle devient jaune citron et conserve son aspect brillant pendant plus de huit jours.

2° Sur gélatine en piqûre le milieu est liquéfié le deuxième jour par le Staphylocoque doré, le huitième jour par le Staphylocoque blanc, et après le dixième jour par le Staphylocoque citrin.

Les trois variétés présentent sur ce milieu le même aspect : sac de liquéfaction avec dépôt coloré au fond. En surface, la liquéfaction atteint le bord du tube.

3° Sur bouillon, les trois variétés donnent en vingt-quatre heures un trouble uniforme, il se produit ensuite un dépôt au fond du tube. La pigmentation du dépôt caractérise la variété.

4° Sur pomme de terre les cultures revêtent le même aspect pour les trois variétés. Celles-ci se présentent le deuxième jour en couche épaisse, chaque variété avec son pigment. La coloration est plus intense sur pomme de terre que sur les autres milieux.

Ayant ainsi obtenu des cultures parfaitement pures, nous avons observé leur pigmentation.

Après vingt jours et plusieurs epiquages successifs, les cultures ont conservé chacune leur pigmentation caractéristique. Nous n'avons jamais observé dans ce laps de temps de transformation d'une variété à une autre.

Le pigment des différentes variétés de Staphylocoques nous a donc paru très stable dans ces expériences (1).



(1) *Bull. Soc. pharm.*, Bordeaux, n° 3, 1921.

RECHERCHES SPÉCIALES

de Quelques Bactéries Pathogènes hautement différenciées

Préparation des émulsions. — Un lot de billets d'origines et de provenances diverses, pris dans la circulation monétaire au moment même de l'expérience, est dilacéré avec des aiguilles et une pince dans une cupule de verre. La poussière ainsi obtenue est triturée quelques minutes au moyen d'un agitateur dans un verre à expérience avec une quantité convenable de sérum physiologique stérile, jusqu'à émulsion homogène.

Tous les appareils : pince, aiguilles, cupule de verre, agitateur, etc., ont été rigoureusement stérilisés au four Pasteur à 180° pendant quarante-cinq minutes.

On laisse au repos quelques instants. Les parties lourdes (sables, graviers, etc.), tombent au fond du verre tandis que les fibres du papier, dilacérées et rompues se rassemblent à la surface du liquide. La partie médiane du sérum louche contient la plus grande partie des germes microbiens primitivement fixés sur le papier.

RECHERCHE DU BACILLE DIPHTÉRIQUE

Pour mettre en évidence la présence du Bacille Diphtérique, nous choisissons la méthode des cultures sur sérum de bœuf coagulé. Nous savons que sur ce milieu les cultures du Bacille de Löffler sont assez caractéristiques. Elles apparaissent souvent après seize à dix-huit heures de séjour à l'étuve à 37° sous forme de petites taches rondes, blanc grisâtre, grosses comme une tête d'épingle, dont le centre est plus clair

que la périphérie. Vue à un faible grossissement la colonie est finement granuleuse, sèche à la surface, les bords sont légèrement translucides.

Avec le fil de platine soigneusement flambé nous prélevons une petite quantité de liquide dans le sérum émulsionné et nous traçons en surface du sérum coagulé quelques stries longitudinales ; nous ensemençons ainsi un deuxième puis un troisième tube sans reprendre de nouveau du liquide ; ceci afin d'obtenir dans les deux derniers tubes des colonies plus espacées et plus caractéristiques.

Les tubes ensemencés sont portés à l'étuve à 37° et nous les examinons après douze, dix-huit et vingt-quatre heures, deux, trois et huit jours.

Nous avons fait dans cet esprit de nombreuses recherches utilisant chaque fois des coupures différentes et en suivant rigoureusement la technique indiquée. Nous n'avons pas eu l'occasion de surprendre le Bacille Diphtérique sur les coupures examinées ; nous n'avons pas non plus mis en évidence le Streptocoque.

Après vingt-quatre heures nous avons obtenu le plus souvent des cultures de Staphylocoques et de divers bacilles saprophytes que nous n'avons pas identifiés.

RECHERCHE DU PNEUMOCOQUE

Le Pneumocoque pouvant se trouver dans les crachats, sang, pus, etc., sa présence sur le papier monnaie serait très vraisemblable.

Pour le déceler dans ce milieu, nous nous sommes adressé à la méthode de l'inoculation, à la souris (*Mus musculus*). Nous savons que ce rongeur est le réactif commode et sensible pour mettre en évidence le Pneumocoque. Après l'inoculation l'animal meurt généralement en vingt-quatre heures. Le microbe pullule dans le sang, où il est facile de le mettre en évidence par les méthodes courantes de coloration du sang.

1° Avec toutes les précautions aseptiques voulues, nous inoculons une souris blanche à la base de la queue, dans le tissu cellulaire sous-cutané au moyen d'une aiguille fine, avec environ 1/2 cc. de liquide émulsionné.

La souris meurt quatre jours après l'inoculation.

L'autopsie pratiquée aussitôt après la mort ne nous donne aucune indication. Nous pratiquons une ponction dans le cœur de l'animal avec une pipette Pasteur stérile, après avoir pratiqué l'asepsie de la paroi.

Le sang recueilli est ensemencé sur gélose et bouillon. Nous pratiquons l'examen microscopique du sang après coloration des frottis au Giemsa et au Gram. Cet examen ne nous révèle la présence d'aucune forme bactérienne. De même après huit jours à l'étuve à 37° les cultures sont négatives.

2° En suivant la même technique, nous inoculons une deuxième souris avec une émulsion provenant d'une coupure différente. L'animal meurt le douzième jour après l'inoculation. Par ponction aseptique du cœur et examen du sang, nous ne décelons aucune forme bactérienne. Le sang est ensemencé sur gélose et bouillon.

Après vingt-quatre heures, le bouillon se trouble faiblement ; le trouble est plus net le troisième jour ; on ne note pas de dépôt au fond du tube, ni de pellicule en surface du liquide.

Le bouillon est ensemencé sur gélose. On obtient sur ce milieu une culture peu abondante, d'un blanc mat tout le long de la strie.

La réaction de l'indol pratiquée avec le bouillon est négative.

Sur gélose ensemencée directement avec le sang, on remarque vers le quatrième jour seulement quelques petites colonies blanches irrégulières disposées le long de la strie.

La gélatine n'est pas liquéfiée. Le lait ne coagule pas.

L'examen microscopique des différentes cultures montre des bacilles se décolorant par la méthode de Gram, très fins et se présentant en amas extrêmement denses. Nous n'avons pas pu les déterminer.

RECHERCHE DU BACILLE TUBERCULEUX

La recherche du bacille tuberculeux dans les produits pathologiques provenant de l'organisme, se fait généralement par l'examen direct des produits par la méthode de Ziehl-Neelsen, et en cas de résultat négatif sur ce premier essai, par l'inoculation au cobaye. Nous savons que ce rongeur est le réactif de choix pour mettre en évidence le Bacille de Koch.

Dans la partie louche de l'émulsion obtenue comme il a été indiqué précédemment, nous prélevons exactement deux centimètres cubes avec une seringue en verre parfaitement stérilisée et nous faisons avec toutes les précautions aseptiques désirables une inoculation sous-cutanée à la cuisse du cobaye.

Première Expérience

Inoculation d'un cobaye pesant 410 grammes. — L'animal est régulièrement nourri et surveillé. Il meurt le dixième jour avec quelques convulsions. Son poids mort est de 330 grammes.

L'autopsie est pratiquée immédiatement :

1° La peau est rasée, lavée avec de l'eau bouillie, puis incisée.
2° On remarque la présence de ganglions inguinaux à droite et à gauche, abondants et très peu volumineux.

3° La cavité péritonéale étant ouverte on constate la présence de ganglions sur le mésentère.

4° Le foie, les reins, les capsules surrénales sont normaux.

5° Les poumons sont normaux ; placés dans l'eau ils surnagent.

6° Les intestins et les organes génito-urinaires sont normaux.

7° Les urines sont opaques, épaisses et crémeuses.

8° Nous pratiquons une prise de sang dans le cœur par ponction aseptique.

Les urines sont examinées avant et après centrifugation par la méthode de Ziehl-Neelsen. Nous ne notons aucune

forme bactérienne. Il en est de même pour le sang examiné après coloration au Giemsa et au Gram.

Les ganglions mésentériques et inguinaux sont réduits en pulpe et examinés au Ziehl-Neelsen avec recoloration au bleu de méthylène. Nous ne notons aucune forme de Bacilles acido-résistante. Il nous est toutefois permis de remarquer sur nos préparations quelques diplo-bacilles encapsulés. Ceux-ci n'ont pu être déterminés, les circonstances matérielles ne nous ayant pas permis de faire des ensemencements.

Deuxième Expérience

Quelques fragments de billets provenant de régions différentes (Bastia, Bordeaux, Périgueux, Rochefort, etc.), sont introduits dans cinquante centimètres cubes de bouillon et portés à l'étuve à 37° pendant vingt-quatre heures.

Nous prélevons deux centimètres cubes de cette macération et faisons une injection sous-cutanée à la cuisse d'un cobaye de poids moyen avec toutes les précautions aseptiques. L'animal régulièrement nourri et gardé dans notre laboratoire sous notre surveillance présente vers le troisième jour une gêne dans la marche, puis de sérieuses difficultés pour se mouvoir, refuse la nourriture et paraît souffrir. Vingt-quatre heures après, ces symptômes commencent à s'atténuer pour disparaître ensuite. L'animal semble alors reprendre une vie normale, mais à partir du dixième jour, il commence à perdre l'appétit et à maigrir. Il meurt le trentième jour sans aucune convulsion.

Protocole de l'autopsie pratiquée le jour même

1° L'animal étant dépouillé, on constate la présence de ganglions lymphatiques hypertrophiés dans les deux régions inguinales.

2° La cavité péritonéale étant ouverte on constate la présence d'une sérosité légèrement louche, peu abondante et localisée aux parties déclives.

3° Le cœur et les poumons placés dans l'eau surnagent normalement.

4° La plèvre est épaissie et congestionnée.

5° Le foie, légèrement hypertrophié présente une couleur rouge foncé marbré.

6° La rate est toute petite, d'une couleur claire et paraît avoir une structure granuleuse. Le ganglion splénique est très hypertrophié.

7° Les reins sont augmentés de volume et présentent une consistance granuleuse ; les capsules surrénales sont hypertrophiées.

8° Le mésentère et le péritoine sont congestionnés et présentent des ganglions hypertrophiés.

9° L'intestin est congestionné.

10° Les organes génito-urinaires paraissent normaux.

11° Les urines sont faiblement opalescentes et renferment des traces d'albumine (avec réactif de Tanret et $\text{N O}^3 \text{H}$).

Les différents organes : rate, foie, ganglions, reins, capsules surrénales, sont recueillis séparément et aseptiquement réduits en pulpe. Les frottis examinés par la méthode de Ziehl, ne présentent pas de bacilles acido-résistants. Il en est de même pour la sérosité péritonéale et les urines traitées avant et après centrifugation. Ces mêmes organes sont inclus dans la paraffine. L'examen des coupes après coloration à l'hémateïne-éosine, ne présentent pas les caractères d'une affection tuberculeuse. On constate une dégénérescence graisseuse du foie.

Troisième et Quatrième Expériences

Deux autres inoculations à deux autres cobayes pratiquées dans les mêmes conditions mais avec des émulsions provenant de billets différents sont restées négatives.

Recherche des Formes Spirillaires

EXAMENS ULTRA-MICROSCOPIQUES

Les espèces des genres *Spirillum* Ehrenberg et *Spirochaeta* Ehrenberg, ont été l'objet de recherches attentives. On sait les difficultés que l'on a pour déceler la présence de ces germes, pourtant si importants, par la méthode des cultures; ces méthodes n'étant pas encore d'un emploi courant dans la pratique. Ces espèces demandent des milieux très spéciaux, et encore faut-il se placer dans des conditions d'expériences tout à fait rigoureuses pour prétendre à quelques résultats. Nous connaissons en effet, l'extrême fragilité de ces germes lorsqu'ils se trouvent dans des milieux autres que l'organisme.

Nous avons choisi une méthode délicate mais sensible comportant l'examen à l'ultra-microscope.

C'est ainsi que nous avons examiné :

1^o Des macérations de papiers monnaie dans l'eau distillée, à froid et à chaud.

2^o Des macérations dans le sérum physiologique.

3^o Les eaux de lavage de nombreux billets; ces eaux employées simultanément pour nosensemencements et nos numérations de bactéries.

Nous avons constaté des quantités considérables de bactéries de formes et de motilités différentes. Certaines espèces paraissant douées de mouvements très actifs. Jamais nous n'avons remarqué d'espèces des genres *Spirillum* et *Spirochaeta*. Nous n'écarterons pas cependant l'hypothèse très vraisemblable de la présence de ces formes sur les coupures. En effet,

des examens ultra-microscopiques pratiqués au Laboratoire municipal de Rouen (1), après simple macération dans l'eau froide stérilisée ayant montré la présence du genre *Spirillum*.

Il est possible étant donné la fragilité de ces micro-organismes que leur existence sur le papier soit de peu de durée, et ne puisse être décelée que dans des conditions favorables.



(1) LE ROY. *Annales des Falsifications*. Octobre 1916, page 345

MOISSISSURES

Les moisissures sont très répandues dans le milieu extérieur. Il suffit d'exposer des matières organiques (fruits, pain, cuir, papier) à une chaleur humide pour voir se développer à leur surface ces champignons filamenteux. Nous avons pensé que le papier monnaie ne faisait pas exception à cet égard. Avant nous déjà on s'était préoccupé de l'altération des papiers par des végétations cryptogamiques. P. Sée (1), a incriminé les champignons inférieurs dans les altérations des papiers ordinaires (livres, ouvrages) et que l'on rapportait jusqu'ici à l'action des insectes. D'après lui certains champignons secrètent un pigment diffusible qui colore les fibres du papier. L'infection serait : ou primitive, provenant des matières premières non stérilisées introduites dans les pâtes ; ou secondaire, c'est-à-dire apportée de l'extérieur sur le papier fabriqué depuis un temps plus ou moins long.

L'état des moisissures varie suivant les espèces ; formes fongiques parfaites, filamenteuses, fumagoïques.

De même la durée de vie, qui peut être de plusieurs années pour certaines espèces, varie également.

Les champignons qui poussent sur les papiers soit spontanément, soit au cours d'expériences sont représentés par un petit nombre de genres et d'espèces auxquels l'auteur donne la dénomination de « Papyricoles » et qui constituent une flore particulière à ce milieu spécial.

Ces altérations ne paraissent pas possibles pour les papiers servant d'échanges et soumis à des manipulations constantes. Mais si les moisissures ne peuvent pas se développer d'une manière complète et ne paraissent pas pouvoir provoquer jus-

(1) PIERRE SÉE. *Journal de Pharmacie et de Chimie*. N° 20, 1919, 7^e série, page 99.

qu'aux altérations constatées par P. Sée, tout au moins peut-on espérer y trouver des germes de ces microorganismes.

Cette constatation paraît intéressante étant donné les propriétés biologiques de ces champignons inférieurs.

Bien que formant une série de représentants de familles différentes, elles ont des caractères communs acquis surtout par suite de leur développement sur des milieux de même nature et dans des conditions semblables. Elles dégagent une odeur caractéristique dite « odeur de moisi ». Elles agissent comme ferments ; elles secrètent des diastases en rapport avec l'aliment qu'elles veulent utiliser et qui en font des agents de destruction de la matière organique.

Dans cet ordre d'idées nous avons pensé qu'une partie du sucre interverti que nous trouvions dans les eaux de lavage du papier pouvait bien n'avoir d'autre origine, que l'action d'une sucrase ou invertine qui agissant sur le saccharose déposé fortuitement sur le papier (chez l'épicier ou le cafetier) le double en sucres réducteurs.

Les moisissures sont encore des agents de maladies parasitaires. Rappelons le rôle pathogène des divers *Aspergillus* et de certaines *Mucorinées* pour ne parler que des formes que nous avons décelées sur le papier monnaie : elles peuvent altérer les substances alimentaires et occasionner des accidents.

RECHERCHE DES GERMES MYCOSIQUES

Nous avons recherché ces moisissures et les avons cultivées sur milieu de Raulin⁽¹⁾ et même plus simplement dans l'eau

(1) Nous rappellerons la composition de ce liquide qui représente un milieu minéral.

Eau 1.500.

Sucre candi 70.

Acide tartrique 4.

Nitrate d' $\text{AzH}^3\text{4}$.

Phosphate d' AzH^3 0.60.

Carbonate de potasse 0.60.

Carbonate de magnésie 0.40.

Sulfate d' AzH^3 0.25.

Sulfate de zinc 0.07.

Sulfate de fer 0.07.

Silicate de potasse 0.07.

distillée stérile. Pour l'ensemencement nous nous servions de petits fragments de papiers d'origines très diverses que nous placions dans des matras Pasteur contenant le milieu de culture, ou même simplement dans un tube à essai de diamètre assez large contenant l'eau distillée stérile.

Une partie des tubes et des matras était mise à l'étuve à 25-30° ; l'autre partie était conservée à la température ordinaire. Les colonies développées sur milieux solides (gélose, gélatine) obtenues au cours des analyses qualitatives et quantitatives étaient ensemencées, outre sur milieu de Raulin, sur carotte et pommes de terre afin de détermination.

Les genres que nous avons caractérisés se rangent dans les deux grandes familles des *Aspergillées* et des *Mucorées*.

1^o Genre *Aspergillus*, Micheli, 1729.

Nous l'avons isolé des eaux de lavage des billets par ensemencement sur liquide de Raulin à la température ordinaire. Après huit jours, il s'est développé en surface, un voile translucide, devenant ensuite touffu et noirâtre. Les cultures semblant toujours se localiser dans la partie supérieure du liquide.

A l'examen microscopique nous avons reconnu un « thalle » en réseaux, d'où partent des filaments aériens fins et délicats, terminés par un renflement. Les chapelets de spores naissent de rameaux courts enserrés sur le renflement sphérique du thalle.

Ces formes renferment des moisissures vulgaires saprophytes très communes sur les substances végétales altérées et principalement sur celles qui contiennent du tannin⁽¹⁾. Certains sont employés dans l'industrie, tels l'*Aspergillus niger*, pour la préparation de l'acide gallique ; d'autres sont des formes pathogènes capables de produire chez l'homme et les animaux des mycoses parfois redoutables. Elles affectent sou-

(1) TRABUT. *Précis de Botanique Médicale*, page 606.

vent les poumons et les bronches (A. Bronchialis, A. Fumigatus). Rappelons l'aspergillose des gaveurs de pigeons et des peigneurs de cheveux.

2° Genre *Penicillium*, Link 1809.

Nous l'avons d'abord isolé d'une culture sur gélatine à 20 0/0, puis étudié sur milieu de Raulin. A l'étuve à 35°, nous avons obtenu en surface du liquide des ilots hémisphériques verdoyants, formant ensuite un gazon vert uniforme avec quelques points de végétation plus active. A la température ordinaire la culture reste incolore faiblement translucide, elle verdit ensuite en vieillissant. Nous l'avons également cultivé sur carotte et pomme de terre. D'abord localisée au point d'ensemencement, la culture revêt ensuite tout le milieu d'un gazon vert très caractéristique. A l'examen microscopique cette moisissure présente un thalle filamenteux, cloisonné et blanc. Les filaments aériens se divisent dichotomiquement et portent les spores disposées en séries linéaires sur le prolongement des ramifications. Ces champignons saprophytes vivent dans la nature sur les substances organiques les plus diverses où ils forment un enduit verdâtre. Ils peuvent s'adapter à la vie parasitaire. Le *Penicillium glaucum*, a été trouvé « dans deux cas d'otite moyenne, chronique, associé à des levures et des bactéries et dans les vomissements de gastrite hyperacide » (1).

3 Genre *Cladosporium*

Nous l'avons trouvé sur gélatine à 20 0/0 ensemencée avec les eaux de lavage de nos billets, puis sur milieu de Raulin ensemencé avec un fragment de papier.

Le champignon se développe directement sur le papier en petites aiguilles tressées, transparentes, formant une masse sphérique, noirâtre au sein du liquide.

(1) VERDUN. *Précis de Parasitologie humaine*, page 627.

L'examen microscopique présente un thalle en filaments noirs et réguliers, cloisonnés, portant des rameaux sporifères.

Les spores naissent au sommet des branches, en chaînettes inégales. Sur les milieux nutritifs riches, les rameaux sporifères portent de vrais chapelets de spores rappelant le *Penicillium*.

C'est une moisissure très voisine en effet, des *Penicillium*, elle est très commune sur les matières organiques d'origines végétales. On la trouve dans presque toutes les substances organiques des laboratoires et des pharmacies.

4^e Genre *Mucor*. Micheli, 1729.

Nous avons vu cette espèce se développer spontanément dans les eaux de lavage de nos papiers, puis sur gélatine et gélose ensemencées avec ces eaux. Nous l'avons étudiée sur liquide de Raulin. Ce milieu ensemencé et porté à l'étuve à 35° donne une culture abondante en surface, d'aspect grisâtre.

L'examen microscopique dénote des tubes mycéliens enchevêtrés en réseaux d'où partent des filaments verticaux qui se terminent par un renflement fructifère. Ce renflement est une capsule sphérique contenant les spores.

C'est une moisissure vulgaire des matières organiques végétales et animales en décomposition, vivant généralement en saprophyte. Elle peut également infester les animaux et l'homme où elle détermine des Mucormycoses ⁽¹⁾ concernant des localisations oriculaires, naso-pharyngées, cutanées et surtout pulmonaires. Nous citerons le *Mucor mucedo* qui produit chez les abeilles une affection mortelle, la mucorine, ou maladie de Mai.

Nos recherches nous ont donc permis de reconnaître les genres : *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium*, *Mucor*.

(1) RAMOND. *Infections parasitaires*, page 565.

N'ayant pas caractérisé les espèces, il ne nous est pas possible de dire si les formes que nous avons ainsi isolées sont pathogènes ou non. Cependant tout nous porte à croire que si les moisissures saprophytes banales sont les plus communes, il puisse s'en glisser de pathogènes.

En effet, les moisissures, parmi les accidents qu'elles déterminent causent fréquemment des mycoses pulmonaires qui par les expectorations sont susceptibles de contaminer le papier monnaie de la même manière que les infections bactériennes.

En résumé, les observations précédentes montrent qu'il existe sur le papier monnaie :

1^o Des espèces bactériennes, *saprophytes banales*, résistantes, très répandues dans les milieux extérieurs, tels *Bacillus subtilis*, *Bacillus mesentericus*, *Bacillus prodigiosus*, etc.

2^o Des espèces appartenant à la flore cutanée, tels les *Staphylocoques*. Cette espèce généralement très répandue dans le milieu extérieur est l'hôte habituel de la peau ; elle est également fréquente dans la cavité buccale. C'est une espèce pyogène et plus spécialement des suppurations cutanées. On lui a fait jouer un rôle encore peu net dans la pathogénie des stomatites, angines, etc.

3^o Des formes appartenant à la flore buccale, tels le *Leptothrix* et le *Tétragène*. Le *Leptothrix buccalis* que nous trouvons fréquemment dans le tartre dentaire et la salive semble pour certains auteurs jouer un rôle dans la carie dentaire. Il a en outre parfois causé par son abondance sur la muqueuse du pharynx une « mycose pharyngée » (1).

Le Tétragène n'est pas simplement l'hôte banal de la cavité buccale, on s'accorde aujourd'hui à lui reconnaître un rôle pathogène important dont des suppurations péri-buccales. On le rencontre aussi au cours de diverses bronchites, gripes. Il est

(1) MACÉ. *Traité de Bactériologie*, page 1.071.

le compagnon fréquent du bacille de Koch dans les cavernes pulmonaires à la formation desquelles il n'est pas étranger. Il est même capable de se répandre dans le sang et de causer de véritables septicémies.

La présence de ces espèces commensales habituelles de cette cavité nous permet de supposer la présence possible de formes pathogènes telles que la Diphtérie et la Méningite ; et d'une façon générale de tous les germes des maladies qui pénètrent dans l'organisme par cette voie. Nous savons qu'il existe des porteurs de germes susceptibles de disséminer autour d'eux la contagion.

4° Des espèces de la flore intestinale tel que le Coli-bacille, l'hôte habituel de l'intestin. La constatation de ce bacille est intéressante non pas tant de ce fait que c'est une espèce pathogène, mais surtout par sa signification d'indice d'infection intestinale possible.

Sa présence dans l'eau est considérée à juste titre comme indice d'une contamination par les matières fécales, en raison de son origine intestinale. On est donc en droit de supposer que là où il est, peuvent se trouver un jour les bacilles nettement pathogènes et spécifiques de même origine : Typhique et Paratyphique, Dyssentérique, Choléra, etc.

5° Très vraisemblablement : le Bacille Tuberculeux, le Bacille Diphtérique et Pneumocoque peuvent être présents sur les papiers monnaie. Le hasard seul pourrait nous permettre de surprendre ces agents pathogènes. Nous ne devons pas éloigner la possibilité de leur présence.

6° Les examens faits en vue de la recherche des Spirochètes dont on connaît toute l'importance, ne nous a pas permis de les identifier. Il n'y aurait cependant rien d'impossible à ce que ces espèces puissent dans certaines circonstances se maintenir un certain temps sur le papier monnaie. Nous savons d'ailleurs que la présence des Spirilles a été signalée. Nous n'avons non plus eu l'occasion de reconnaître le Treponema agent de la syphilis mais l'existence fréquente d'accidents

buccaux ou cutanés riches en treponem autorise la supposition d'une possibilité de transmission dans des conditions favorables.

7° Des moisissures dont certaines formes provoquent des troubles, en particulier des mycoses pulmonaires.

Les manipulations auxquelles est soumis le papier monnaie et les contacts variés qu'il subit nous permettent d'expliquer ces apports d'origines différentes :

La présence des bactéries saprophytes s'explique aisément et ne doit pas nous arrêter. Les germes qui nous environnent de toutes parts, ont toutes facilités pour se déposer sur les papiers.

Les contacts avec la peau, avec les doigts, nous expliquent l'apport des éléments cutanés, et aussi de la flore intestinale par un procédé sur lequel on nous permettra de ne pas insister.

L'habitude fâcheuse et peu recommandable qu'ont beaucoup de personnes d'humecter de salive leurs doigts pour manipuler plus aisément les papiers monnaie, les recolages successifs à l'aide de papier gommé imprégné de salive pour les remettre en état, nous permettent d'expliquer la présence des espèces représentant la flore buccale.

On comprend que le Bacille de la Tuberculose ainsi que les Spirochètes et les Treponems puissent, à la faveur de ces manipulations, se fixer à leur tour sur les papiers monnaie.

CHAPITRE II

Recherches Chimiques

CONDITIONS DE MILIEU OFFERTES PAR LE PAPIER MONNAIE

Il ne nous a pas paru suffisant de rechercher les espèces microbiennes qui pullulent sur le papier monnaie. Nous avons pensé qu'il serait intéressant d'analyser les conditions de milieu offertes par le papier lui-même et de reconnaître si l'enduit septique qui le recouvre, ne constituait pas un milieu propre à abriter les bactéries et même à faciliter leur développement.

Parmi ces conditions, les unes sont d'ordre *physique* telles que la température et l'humidité ; d'autres sont d'ordre *chimique*, comprenant les corps qui enduisent les billets.

CONDITIONS D'ORDRE PHYSIQUE

1° Température. — Au point de vue température rappelons que certaines espèces saprophytes se développent très bien à la température ordinaire ; d'autres au contraire, et en particulier les espèces pathogènes sont plus exigeantes, elles demandent une température voisine de celle du corps humain, 37°, ce sont précisément ces dernières qui nous intéressent.

Le papier monnaie, suivant les cas, se trouve à la température ordinaire lorsqu'il est par exemple dans les tiroirs des caisses ou encore à une température voisinant celle du corps lorsqu'il se trouve à l'intérieur de portefeuilles, carnets, porte-

monnaies servant couramment à les transporter. Il est même conservé parfois directement dans la poche d'un vêtement.

Nous avons recherché les températures réalisées dans ces divers cas.

Un thermomètre placé dans la poche intérieure du veston à côté d'un carnet spécialement affecté à la conservation des coupures divisionnaires, nous a donné :

Dans une chambre d'une température de 18° une temp. moy. de 24°.

Dans une chambre d'une température de 16° une temp. moy. de 22°.

Dans une chambre d'une température de 15° une temp. moy. de 21°.

Porté dehors sous le pardessus, pour une température extérieure variant de 12° à 15° dans un après-midi, une température moyenne de 22°.

Un thermomètre à maxima et minima, introduit dans la poche intérieure d'un vêtement, suspendu au porte-manteau dans une chambre d'une température variant de 10° à 11° la nuit, nous donné une température maxima de 14° et minima de 12°.

Les mêmes expériences répétées dans la poche du pantalon nous ont donné des températures variant entre 28° et 32°.

2° *Humidité*. — M. Le Roy (1) indique pour des billets neufs et usagés une moyenne de 7 % environ d'humidité totale à 105°.

D'un autre côté, voici les résultats que nous avons obtenus :

Les billets préalablement pesés, sont portés à l'étuve à 100° jusqu'à dessiccation complète. Nous avons opéré sur des coupures recueillies au cours d'échanges monétaires chez différents commerçants, et les avons examinées aussitôt.

Soit P. le poids du billet avant dessiccation, et P' le poids du billet après dessiccation.

(1) LE ROY. *Annales des Falsifications*, Octobre 1916, page 345.

1^o Billet de 2 francs, Angoulême :

$$\begin{array}{ll} P. = 0.990 & H. = 0.105 \\ P' = 0.885 \end{array}$$

2^o Billet de 2 francs, Agen :

$$\begin{array}{ll} P. = 0.960 & H. = 0.073 \\ P' = 0.887 \end{array}$$

3^o Billet de 1 franc, Metz :

$$\begin{array}{ll} P. = 0.70 & H. = 0.07 \\ P' = 0.63 \end{array}$$

4^o Billet de 1 franc, Toulouse :

$$\begin{array}{ll} P. = 0.50 & H. = 0.04 \\ P' = 0.46 \end{array}$$

5^o Billet de 1 franc, Bayonne :

$$\begin{array}{ll} P. = 0.93 & H. = 0.08 \\ P' = 0.85 \end{array}$$

Ce qui nous fait une moyenne de 0.0736 par billet. Soit environ 9 % d'humidité totale à 100°.

CONDITIONS D'ORDRE CHIMIQUE

Tout milieu de culture doit satisfaire à un ensemble de conditions telles que réaction et composition chimique.

1^o *Réaction du milieu.* — Alors que les bactéries préfèrent un milieu neutre ou légèrement alcalin, les moisissures, au contraire, acceptent un milieu acide.

Nos résultats nous montrent que les caux de lavage des papiers monnaie examinées systématiquement, ont donné le plus souvent une réaction neutre au tournesol ; dans deux cas seulement nous avons obtenu une réaction faiblement acide. Par conséquent, à ce point de vue, le papier monnaie ne diffère pas d'un milieu de culture ordinaire.

2^o *Composition chimique de l'enduit.* — On s'applique dans la fabrication des milieux de culture à introduire dans ces derniers les substances que l'analyse chimique a révélé dans les corps microbiens.

L'étude chimique montre que la cellule bactérienne con-

tient de l'eau, de la cellulose, des matières amylacées, sucrées, albuminoïdes, grasses et des principes minéraux.

Les aliments fondamentaux sont pour les bactéries comme pour toute cellule vivante qui évolue : le carbone, l'azote, l'oxygène, l'hydrogène et des éléments minéraux. Pour vivre et se développer les bactéries doivent trouver dans le milieu qui les héberge, des aliments appropriés à leurs actes vitaux.

L'oxygène et l'hydrogène leur sont fournis surtout par l'eau et l'air. La source de carbone se trouve généralement dans les composés ternaires : sucre, amidon, cellulose, etc. Certaines bactéries emprunteraient leur carbone aux carbonates (1).

L'azote est fourni par les matières albuminoïdes, principalement les peptones qui sont les plus solubles et les plus dialysables, les sels ammoniacaux, lactates et tartrates d'ammoniaque, l'urée, et les nitrates accompagnés d'une matière organique.

Parmi les éléments minéraux nécessaires aux bactéries en premier lieu on peut mettre le chlorure de sodium et le phosphate de potassium. Le soufre, le calcium, le magnésium, le fer, le silicium, viennent ensuite, on les retrouve d'ailleurs dans leurs cendres.

Certaines bactéries peuvent croître avec des aliments en proportion tellement minime qu'ils échappent à l'analyse. Elles effectuent de véritables échanges avec le milieu ; elles y puisent leurs aliments et y rejettent les résidus de leur activité vitale.

Une étude chimique de bons divisionnaires usagés, a été présentée à la Société des experts chimiques de France par M. Le Roy, Directeur du Laboratoire municipal agréé de Rouen.

Voici ce que nous dit l'auteur :

« J'ai été amené au Laboratoire de Rouen, à la requête de

(1) MACÉ. *Bactériologie*, page 43.

« la Recette municipale, où doivent se manutentionner chaque
 « jour des quantités importantes de ces bons divisionnaires,
 « à déterminer par l'analyse chimique la nature et la propor-
 « tion des « crasses » qui enduisent un tel papier monnaie
 « après une quinzaine environ de circulation publique.

« Voici les résultats des analyses effectuées sur un lot
 « d'une cinquantaine de grammes de bons divisionnaires à
 « 0 fr. 50 *usagés*. De mêmes bons pris à l'état *neuf* et avant
 « toute mise en circulation ont été analysés de même et con-
 « jointement de façon à obtenir une base de comparaison
 « initiale.

		Billets neufs	Billets usagés
Humidité à 105°.....	%	6.430	6.930
Matières gras. (sol. ds. l'éther).....		1.210	5.990
Mat. min. (cendres).....		6.770	7.340
Mat. sol. ds. l'eau froide.....		—	5.380

Les dites matières solubles dans l'eau se répartissent en :

Chlorures (en NaCl).....		0.750
Sulfates (en Na ² SO ⁴).....		0.890
Carbonates (en CO ³ Na ²).....		0.580
Matières sucrées.....		1.780
Matières ammoniacales (en AzH ³).....		0.005
Matières albuminoïdes.....		1.990
Nitrates, nitrites, sulfures.....	néant.	néant.

« On peut conclure de ces dosages que le papier monnaie
 « qui à l'état neuf ne contient que 1 0/0 environ de matières
 « grasses représentant l'encrage d'impression et d'apprêt se
 « trouve rapidement chargé de 10 0/0 de matières grasses et
 « autres qui constituent ce mélange hétérogène et innommable :
 « la « crasse », où l'on retrouve les chlorures et les matières
 « albuminoïdes de la sueur, voir même des matières sucrées
 « apportées vraisemblablement au cours de paiements chez
 « l'épicier ou le « bistro ».

A notre tour nous nous sommes attachés surtout à recher-

cher les matières grasses, réductrices, albuminoïdes, les sels minéraux solubles et nous avons fait l'examen des cendres.

Nous n'avons pas eu l'intention de faire une étude chimique complète qui était pour notre travail d'un intérêt secondaire. Nous nous sommes bornés à rechercher qualitativement par les procédés les plus simples, les principes composant l'enduit des papiers.

Il n'y a pas seulement, en effet, que les principes utiles pour le développement des bactéries que nous devons connaître, il y a lieu d'examiner aussi s'il n'y aurait pas dans certains cas des substances empêchantes, capables de s'opposer à leur développement.

A. Matières solubles dans l'éther (mat. grasses et résines)

Chaque billet préalablement pesé, est introduit avec 10 centimètres cubes d'éther sulfurique dans un tube à réaction bouché hermétiquement. On agite quelques minutes puis on laisse déposer un quart d'heure environ. On décante et filtre. Le filtrat est recueilli dans une capsule en verre parfaitement nettoyée, séchée et tarée. La capsule est portée à l'étuve à 25°, soit abandonnée à l'évaporation spontanée, à l'abri des poussières de l'air.

Soit : P. = Tare de la capsule.

P' = Poids de la capsule après évaporation.

P' — P. = Poids des matières grasses et résineuses.

Exp.	BILLETS	Pds du bill.	P.	P'	P' — P.
1	Bordeaux, 0.50 centimes.....	0.50	38.15	38.18	0.03
2	Deux-Sèvres, 0.50 centimes..	1.10	»	38.22	0.07
3	Montpellier, 1 franc	0.60	»	38.20	0.05
4	La Rochelle, 0.50 centimes...	0.85	»	38.20	0.05
5	Bordeaux, 1 franc	0.80	»	38.21	0.06
6	Paris, 1 franc.....	0.75	»	38.18	0.04
7	Rochefort, 0.25 centimes	1.03	»	38.21	0.07
8	Agen, 0.50 centimes.....				
	Boulogne-sur-Mer, 2 francs..				
	Paris, 1 franc.....	2.45	»	38.34	0.19
	Nantes, 0.50 centimes.....				
	Châteauroux, 0.50 centimes..				
10	Mont-de-Marsan, 1 franc.....	0.70	»	38.25	0.10

Pour un poids moyen des billets de 0.675 nous obtenons 0.05 de produits solubles dans l'éther, ce qui nous fait une moyenne de 7 % environ.

B. — Matières solubles dans l'eau

Les coupures sont traitées :

1° A froid pendant douze heures par 10 centimètres cubes d'eau distillée. Au bout de ce temps on décante et filtre. Le billet est alors lavé par 5 centimètres cubes d'eau, on décante à nouveau, on filtre et réunit les eaux.

2° A chaud pendant cinq minutes à l'ébullition par 10 centimètres cubes d'eau distillée ; le billet résiduel est alors traité comme précédemment.

Examen des eaux de lavage de quelques échantillons

1° Billet de 1 franc, Deux-Sèvres, n° 27.III.

Ce billet est traité après avoir été retiré six mois de la circulation.

Réaction des eaux de lavage au tournesol. Neutre.

Présence de : Chlorures..... Quantités très notables

Sulfates Traces.

Produits ammoniacaux..... Quantités notables.

2^o Billet de 1 franc. Gers, n^o 53.430, série K.

Ce billet est traité à chaud.

Réaction des eaux de lavage au tournesol : Neutre.

Ces eaux réduisent abondamment la liqueur de Fehling.

Chlorures.....	Traces.
Sulfates.....	Traces.
Chaux.....	Présence notable.
Produits ammoniacaux.....	Présence notable.
Nitrates.....	Présence faible.

3^o Billet de 1 franc, Mont-de-Marsan, n^o 4.691, série 96.

Ce billet est traité à froid.

Réaction des eaux de lavage au tournesol : Neutre.

Réduit la liqueur de Fehling.

Chlorures.....	Quantités très notables.
Chaux.....	Quantités notables.
Sulfates.....	Traces.
Produits ammoniacaux.....	Quantités notables.

4^o Billets de 1 franc. Bayonne, n^o 8.475, série 3.

Billets de 1 franc. Lyon, n^o 9.764, série 3.

Les eaux de lavage de ces billets réduisent abondamment la liqueur de Fehling et précipitent le réactif de Tanret.

C. — Cendres

Billet de 0.50 centimes. Poitiers, n^o 69.680, série E, 2.

Poids du billet : 0 gr. 85.

Le billet est calciné dans une capsule de porcelaine fine préalablement tarée.

Tare de la capsule : 60 gr. 30.

Poids de la capsule après incinération : 60 gr. 36.

Cendres : 0.06 ctg.

Les cendres sont reprises par l'eau distillée qui en dissout une forte proportion. Dans ces eaux de lavage, nous trouvons :

Chlorures.....	Quantités très notables.
Sulfates.....	Quantités notables.
Produits ammoniacaux.....	Traces.

Une autre partie est soluble dans HCL.

Nous trouvons :

Fer	Quantités notables.
Alumine.....	Traces.
Chaux.....	Présence appréciable.
Sulfates	Traces.
Phosphates.....	Traces.

La partie résiduelle est représentée par de la silice.

En résumé, le petit billet que nous manipulons à tous instants peut servir de milieu de culture.

Il est revêtu d'un enduit complexe dans lequel nous trouvons des matières grasses, des matières sucrées, des matières albuminoïdes, des sels minéraux, représentés principalement par des chlorures et des sulfates, des sels ammoniacaux, de la chaux, du fer, de l'alumine, etc.

Ce sont là, tous les éléments nécessaires à la vie des bactéries. Ils entrent, en effet, pour certains dans les milieux de culture employés couramment dans nos laboratoires. Nous ne trouvons aucun élément qui s'oppose au développement des bactéries.

Conservé un temps plus ou moins long sous nos vêtements le petit billet se trouve dans sorte d'étuve naturelle, humide, où la température se rapproche de celle du corps humain, condition exigée par certains microbes, principalement les espèces pathogènes.

Ces deux ordres de facteurs, agissant simultanément, nous montrent qu'en raison des circonstances ordinaires dans lesquelles s'effectue la circulation du papier monnaie, les germes composant la flore des papiers, trouvent là toutes les conditions requises pour leur développement.



CHAPITRE III

Recherches Expérimentales

*Durée de l'existence des espèces microbiennes sur le papier monnaie
Leur vitalité. Leur résistance.*

Nous avons mis en lumière dans un chapitre précédent la présence de nombreuses espèces microbiennes capables de conserver leur vitalité sur le papier-monnaie. Ce papier nous l'avons vu constituer un milieu de culture.

Nous avons recherché expérimentalement à préciser et à étendre ces notions. Il importe en effet de savoir quelle durée on peut assigner à l'existence de ces espèces sur ces papiers et en particulier aux bactéries pathogènes. Nous savons que la vitalité et l'existence des bactéries sont des plus variables. Elles sont fonction de l'espèce elle-même, de son mode de reproduction, des conditions dans lesquelles elle se trouve placée. C'est l'influence de ces divers facteurs que nous nous sommes efforcés de dégager. Il existe des documents aussi nombreux qu'intéressants sur la résistance des microbes aux divers facteurs qui tendent à les détruire.

Dès l'origine de la Microbiologie, on se posait cette question : « Quelle est la durée de la vie des microbes ». En 1882 Duclaux étudiant des bourres de coton chargées de poussières de l'air par Pasteur dans ses expériences de 1859 et 1860, c'est-à-dire 22 ans après, pouvait conclure « qu'après ensemencement dans l'eau de navet sucré, toutes les bourres s'y sont

montrées stériles » (1). Dans une autre expérience, Duclaux montre des spores de *Penicillium* vivantes après vingt deux ans de conservation dans un liquide approprié (2).

Les différents facteurs capables d'augmenter ou d'atténuer la vitalité des microbes sont pour les principaux :

1° *Le degré hygrométrique.* Les germes conservés à sec meurent plus vite.

2° *La température.* Nous savons que les microbes ne vivent que dans certaines limites de température. Une température basse leur est moins funeste qu'une température élevée.

Les températures qu'ils supportent sur le papier monnaie, nous l'avons vu précédemment, sont voisines de celle du milieu extérieur et de celle du corps humain, et dans les deux cas nous ont paru très près des températures optima requises pour le développement des diverses catégories de bactéries.

3° *La lumière.* On connaît l'action nocive de la lumière sur les bactéries, tandis que le Bacille de la Tuberculose et le Bacille de la Diphtérie perdent leur virulence sous l'action des rayons solaires (3), d'autres semblent plus résistants tels : le Bacille d'Eberth, le Bacille du Choléra, les Staphylocoques, etc. Nous savons que celles qui vivent sur le papier monnaie sont la plupart du temps à l'abri de la lumière.

4° *L'oxydation.* La nature du milieu et en particulier la présence d'oxygène jouent un rôle important. Il existe des espèces aérobies et des espèces anaérobies. D'une façon générale les bactéries du papier monnaie se développent à l'air libre.

(1) CHARPENTIER. *Les Microbes*, chap. III, page 71.

(2) CHARPENTIER. *Les Microbes*, chap. III page 71.

(3) Des expériences pratiquées dernièrement au Sanatorium de Leysin (Suisse) semblent en contradiction avec ces faits. Des crachats tuberculeux, exposés au soleil durant plusieurs heures et à plusieurs reprises ont conservé leur virulence.

5° L'action de ces divers facteurs varie en outre avec les espèces elles-mêmes comme en témoignent les exemples précédents.

6° Les états sous lesquels se présentent les bactéries ont également une importance. Il existe des formes fragiles qui correspondent à la période d'activité et de reproduction de la bactérie. D'une manière générale, la vitalité est en raison inverse de la rapidité et de l'abondance du développement⁽¹⁾. Il existe aussi des formes de résistance, les spores, pendant lesquelles la bactérie est à l'état de vie latente. Il est des bactéries sporulées, il en est d'autres qui ne présentent jamais cet état ; les premières offrent une résistance beaucoup plus grande aux influences qui tendent à les détruire.

7° Il faut encore tenir compte de la concurrence vitale des bactéries entre elles.

8° Enfin la virulence aurait aussi une action sur la vitalité de la bactérie ; ces facteurs seraient entre eux en rapport direct.

Dans nos expériences, nous nous sommes autant que possible rapprochés des conditions dans lesquelles les bactéries se présentent sur les papiers.

Faire varier ces conditions jusqu'à la destruction, c'est-à-dire, préciser celles qui sont nettement défavorables à ces bactéries et qui permettent de les détruire sur ces papiers monnaie, constitue une étude très différente qui envisagerait les divers moyens de stérilisation des papiers, étude qui est en dehors du cadre que nous nous sommes tracé.

Au cours de nos expériences nous avons eu toutefois l'occasion d'étudier la résistance de ces espèces microbiennes vivant sur les papiers et d'effleurer ce sujet.

(1) BEZANÇON. *Microbiologie*, page 21.

Essai de stérilisation des billets par les antiseptiques

Au cours d'essais préliminaires, nous avons été amené à essayer l'action des agents ordinaires de désinfection (sublimé, corrosif, cyanure de mercure, acide phénique, formol du commerce, etc.) Nous savons que ces agents chimiques sont des poisons pour les microbes mais qu'ils sont pour la plupart sans action sur les spores. Leur action est lente. Les microbes s'accoutument aux antiseptiques. Certains même s'en accommodent très bien (l'acide phénique sert à isoler le Coli-bacille). D'autre part la couche grasseuse qui englobe les microbes sur le papier est un obstacle sérieux à l'action des antiseptiques.

Aucun de ces moyens ne nous a donné des résultats de stérilisation suffisante.

Stérilisation des billets par la chaleur

Le souci de ne pas altérer les coupures qui devaient ensuite servir à nos expériences nous a fait choisir la stérilisation à l'autoclave.

Pour cela, chaque billet est enveloppé avec soin de papier Joseph et introduit dans un flacon de verre à large ouverture fermé par un tampon de coton. Le flacon et son contenu sont portés dans l'autoclave et stérilisés une demi-heure à 130.

Méthode générale d'expérimentation

Voici maintenant l'exposé de la méthode générale que nous avons adoptée pour nos expériences. Nous indiquerons à propos de chaque espèce prise comme type les conditions d'expérimentation particulière s'y rattachant.

Nous avons choisi dans la circulation monétaire des coupures en aussi bon état que possible et d'autres très usagées, principalement crasseuses, mais ne présentant pas d'altération. Les unes et les autres ont été stérilisées à l'autoclave en suivant la technique indiquée précédemment.

Dans chacune de nos expériences nous avons gardé un

fragment de papier comme témoin. Celui-ci porté dans un bouillon peptoné s'y est montré parfaitement stérile après huit jours. Nous avons souillé d'autres fragments de ces mêmes billets avec l'espèce étudiée, prise dans des cultures récentes et chaque fois que cela nous a été possible dans des produits pathologiques provenant directement de l'organisme. Nos papiers ainsi souillés expérimentalement, ont été conservés dans des boîtes de Pétri, pour les unes à la température ambiante, pour les autres à l'étuve à 25° et 30°, c'est-à-dire aux températures réalisées dans les expériences indiquées dans un précédent chapitre.

Nous avons choisi quelques types pathogènes différents par leur vitalité et leur virulence et offrant pour l'infection microbienne une importance de premier ordre.

EXPÉRIENCES

1^o Espèce Saprophyte

A. *Bacillus Prodigiosus* Ehrenberg.

Nous avons choisi comme type d'espèce saprophyte banale le *Bacillus Prodigiosus*. Cette bactérie est fréquente dans l'air et également commune dans l'eau et le sol. Elle contamine fréquemment les substances alimentaires.

Cette bactérie a comme particularité intéressante la production d'un pigment rouge vif très caractéristique.

Nous l'avons isolée plusieurs fois dans nos cultures, et nettement caractérisée sur le papier monnaie, ceci a été indiqué au début de notre travail.

Nous nous sommes adressés pour nos expériences à une culture jeune en bouillon. Nous avons très légèrement humecté de petites bandes de papier monnaie stérile dans la culture puis conservé celles-ci en boîte de Pétri, à la température ordinaire, à l'abri des poussières et des souillures.

Après quarante-huit heures une bande de papier ensemen-

écée sur bouillon peptoné, à l'étuve à 25°, nous a rapidement donné un petit liseré superficiel rosé nettement caractéristique. L'examen microscopique nous a montré la bactérie en courts bâtonnets de 1 μ environ, se décolorant par la méthode de Gram.

Recherché systématiquement après cinq, dix et quinze jours, nous avons chaque fois caractérisé le bacille par les méthodes de cultures appropriées : un papier ensemencé après vingt jours de conservation en boîte de Pétri, nous a donné sur bouillon un trouble rapide mais peu abondant : nous n'avons pas noté de changement de coloration du milieu. Porté sur gélose en stries, nous avons obtenu après vingt-quatre heures de larges bandes muqueuses, rouge sang à reflets brillants.

L'examen microscopique a montré les bacilles en formes petites et arrondies. Nous savons en effet que cette bactérie se présente, suivant son état de développement plus ou moins avancé et suivant le milieu de culture qui l'héberge, en formes allongées ou arrondies : ce qui l'a fait classer par les auteurs indifféremment dans les genres *Bacillus* ou *micrococcus*.

Après vingt jours nous n'avons plus caractérisé cette espèce, les papiers ensemencés sont restés stériles. La bactérie semble avoir perdu toute vitalité et s'être détruite elle-même.

2° Espèces Pathogènes

A. Bacilles Sporulés

Bacillus Anthracis Davaine.

En prenant comme type de bacille se reproduisant par spores, le *Bacillus Anthracis*, il nous a paru particulièrement intéressant de dégager expérimentalement les possibilités d'existence de cette espèce sur les papiers en circulation. Nous savons en effet que cette bactérie détermine chez l'homme et les animaux des maladies éminemment conta-

gieuses. Rappelons que l'infection charbonneuse chez l'homme provoque, suivant son mode de pénétration, soit le charbon cutané, (pustule maligne) soit le charbon gastro-intestinal ou le charbon pulmonaire. Chez les animaux (mouton, cheval, vache) les manifestations pathologiques se traduisent par des troubles dans le sang où nous voyons apparaître la bactérie.

Dans ces différentes maladies le diagnostic bactériologique se fait par la recherche directe du bacille dans les produits pathologiques.

On connaît les propriétés biologiques du *Bacillus Anthracis*. Nous rappellerons qu'elles sont notablement différentes pour la bactérie et pour la spore. Tandis que la bactérie exige pour se développer un milieu alcalin, humide, riche en oxygène ; la spore se suffit à elle-même et résiste à la dessiccation. D'après Duclaux elle pourrait résister à la dessiccation en vase clos pendant plus de 25 années.

Les différents facteurs, chaleur, froid, lumière, antiseptiques agissent puissamment sur la bactérie, tandis qu'ils sont sans action sur la spore.

Nous avons souillé expérimentalement des fragments de papiers monnaie stérilisés avec des cultures sur gélatine et sur bouillon. Ceux-ci ont été conservés à la température ordinaire dans des boîtes de Pétri stériles et fermées afin d'éviter la contagion autour de nous.

Pour mettre en évidence la bactérie nous avons de quinze jours en quinze jours, placé une bande de papier contaminé dans un tube de bouillon peptoné ; puis l'avons cultivée sur gélatine en piqures, sur gélose et sur gélatine en plaque.

L'aspect des cultures et l'examen microscopique nous a montré chaque fois la présence du *Bacillus Anthracis*.

Celui-ci nous a paru sporulé dans les cultures sur bouillon et gélose de huit jours, puis a présenté les différentes formes bien connues, en filaments longs non segmentés et en courts bâtonnets suivant les milieux d'études employés.

Deux mois après la souillure de nos papiers, le bacille était

encore caractérisé. Nous n'avons pas poussé plus loin nos expériences avec cette espèce, pensant bien que notre but était atteint en prouvant les possibilités d'existence de cette bactérie pathogène deux mois durant sur le papier monnaie. Ceci d'ailleurs n'a rien qui puisse nous étonner étant donné les propriétés de vitalité et de résistance très grandes que possède ce microbe.

B. Bacilles non Sporulés

Staphylococcus pyogenes Rosenbach.

Nous avons choisi comme deuxième type pour nos expériences le Staphylocoque en raison de son extrême abondance sur notre tégument cutané et dans la cavité bucco-pharyngée. Cette bactérie, agent des furoncles, anthrax, phlegmons, présente d'après certains auteurs, suivant ses états, des virulences différentes.

Alors que le Staphylocoque blanc est considéré comme parasite habituel sans virulence de la peau (Sabouraud), le Staphylocoque pyogène, blanc ou doré, se présente au contraire comme particulièrement nocif.

Nous avons pris une culture jeune sur gélose de Staphylocoque pyogène blanc, provenant de l'ensemencement direct sur ce milieu d'un pus humain. Avec le fil de platine nous avons souillé en plusieurs points des petites bandelettes de papier stérile. Ces bandelettes enveloppées de papier Joseph stérile ont été conservées en boîtes de Pétri à la température du Laboratoire.

Nous avons recherché systématiquement le microbe par culture sur milieux appropriés, et l'avons caractérisé après dix, vingt, trente et quarante jours. Au bout de ce temps les bandelettes souillées par nos soins, et conservées comme il a été dit, ne nous ont plus permis après ensemencement et culture de caractériser le Staphylocoque. Toutes les cultures

sont restées négatives nous pouvons dire que le *Staphylococcus pyogenes albus*, a conservé sa vitalité sur le papier pendant un mois et demi.

Bacillus Coli communis Escherisch.

Ce microbe, hôte habituel de l'intestin des hommes et des animaux, est très répandu par la dissémination des matières fécales desséchées. Il a été longtemps considéré comme une saprophyte sans importance. Sa présence et son abondance dans certaines affections de l'appareil intestinal et son association fréquente avec d'autres espèces particulièrement nocives lui donnent aujourd'hui une importance indiscutable.

Nous nous sommes adressés à cette espèce en raison de sa signification comme indice d'infection. Nous l'avons nettement caractérisée plusieurs fois sur le papier monnaie, où elle semble d'ailleurs se retrouver très facilement comme en témoignent les résultats indiqués par les différents auteurs.

Nous avons souillé des bandelettes de papier stérile avec une culture en bouillon de quarante-huit heures ; celles-ci ont été conservées entre deux feuilles de papier Joseph stérile à l'étuve à 30°. Nous avons recherché le bacille après cinq et dix jours par culture sur milieux spécifiques (lait tournesolé, gélose Endo, gélose rouge neutre, bouillon phéniqué, eau peptonée). Nous l'avons chaque fois caractérisé sur ces milieux. La réaction de l'indol a été chaque fois positive.

Après quinze et vingt jours, l'expérience répétée, montre que lesensemencements de nos papiers monnaie souillés expérimentalement, ne donnent plus de culture sur *milieux solides*. Mais ils poussent encore sur *milieux liquides* (bouillon phéniqué et eau peptonée). La réaction de l'indol est positive jusqu'au vingtième jour.

Il semble bien que le Coli-bacille a perdu de sa vitalité vraisemblablement sous l'influence de la dessiccation, comme d'ailleurs le fait a été déjà observé.

Quoiqu'il en soit, nous pouvons dire que le Coli-bacille a conservé sa vitalité sur nos papiers pendant vingt jours.

Bacillus Typhosus Eberth.

La présence répétée du Coli-bacille sur le papier monnaie, nous a amenés à rechercher expérimentalement les possibilités de vie des autres bacilles de la même série.

Nous avons pris comme type dans ces expériences le *Bacillus Typhosus* en raison de l'importance considérable que cette espèce présente pour l'infection microbienne.

Il nous a paru intéressant au plus haut point de démontrer avec la possibilité d'existence de ce bacille sur les coupures en circulation, sa durée de vie dans ce milieu. Ce point devant nous permettre d'affirmer combien de temps reste dangereuse une coupure souillée par ce microbe.

Nous avons souillé par immersion dans une culture sur bouillon de 24 heures quelques bandes de papier stérile et d'autre part nous avons souillé quelques fragments de coupures stérilisées avec une culture sur gélose. Les unes et les autres ont été conservées à l'abri des poussières, dans des boîtes de Pétri à l'étuve à 30 degrés et examinées systématiquement après quarante-huit heures, quatre jours et huit jours.

Nous avons pu mettre en évidence la bactérie au moyen des milieux de diagnostic sensibles et spécifiques : lait tournesolé, gélose au sous-acétate de plomb, gélose glucosée tournesolée, jusqu'au huitième jour. Passé ce délai nous n'avons plus caractérisé la bactérie, les papiers se sont montrés stériles après ensemencement. Ce qui nous amène à dire que le Bacille d'Eberth a conservé sa vitalité sur nos papiers pendant huit jours.

Bacillus tuberculosis Koch.

Ce bacille dont le rôle dans l'hygiène publique apparaît chaque jour comme un problème plus angoissant est doué de

propriétés qui lui donnent une vitalité et une résistance très grandes. Sans entrer dans le détail, rappelons la longue vitalité des cultures à l'abri de la lumière et la résistance du Bacille à la dessiccation, au froid, ainsi qu'aux agents de désinfection. On le trouve encore virulent dans des poussières contaminées par des crachats desséchés, au bout de plusieurs mois.

Nous n'avons pu être affirmatif sur la présence du Bacille Tuberculeux sur le papier monnaie dans nos recherches antérieures. Des expériences négatives ne sauraient être suffisantes pour prouver sa non-existence. Ce qu'il importe de démontrer c'est sa possibilité. Etant donné l'importance de cette constatation nous avons repris ici cette étude en faisant varier les conditions d'expérience.

Voici comment nous avons procédé :

Dans une coupure de la région provençale, en bon état nous avons découpé une bande de 7 centimètres de long sur 1 centimètre de large. Ce fragment de billet est stérilisé à l'autoclave. Une moitié de la bande est gardée comme témoin et le deuxième fragment est souillé avec un crachat tuberculeux. Pour cela, nous prélevons avec une anse de platine flambée quelque mucosités dans un crachat dilué avec du sérum physiologique après nous être assuré que ce crachat renfermait nettement le Bacille de Koch. Nous touchons en plusieurs points la bande de papier et la laissons sécher. Celle-ci est alors enveloppée de papier Joseph stérile et conservée avec précaution à l'abri des poussières de l'air, à la température ambiante. Après cinq jours le papier souillé est dilacéré avec des aiguilles stérilisées et introduit avec 5 centimètres cubes de sérum physiologique dans un tube à essai fermé, par un bouchon de caoutchouc.

Le sérum, le tube, le bouchon, la pipette ont été préalablement stérilisés. On agite 5 minutes et laisse reposer un quart d'heure; le papier se dépose au fond du tube et le liquide surnageant, faiblement louche, contient la plus grande partie des produits de souillure. Nous prélevons avec une se-

ringue en verre stérilisée 1 c. c. de ce liquide surnageant, et faisons une injection sous-cutanée à la patte gauche arrière d'un cobaye pesant 380 grammes.

L'animal est gardé dans notre laboratoire à l'abri des intempéries, bien nourri et surveillé journellement. Il présente au bout de quelques jours une perte d'appétit puis un amaigrissement total qui va en s'accroissant et meurt dans un état de cachexie profonde le vingt-deuxième jour. Son poids mort est de 170 grammes.

Protocole de l'autopsie pratiquée le jour même

1° L'animal étant dépouillé on constate la présence de volumineux ganglions lymphatiques, dans la région inguinale gauche du côté de l'injection sous-cutanée.

2° La cavité péritonéale étant ouverte on constate sur le mésentère de volumineux ganglions lymphatiques. Ces ganglions aussi bien que les ganglions inguinaux sont en pleine caséification.

3° Le thorax étant ouvert on trouve dans la plèvre une sérosité abondante.

4° Le cœur et les poumons placés dans l'eau surnagent normalement, mais les poumons sont nettement congestionnés et de plus présentent plusieurs foyers de caséification très nets.

5° Le foie est petit, et présente des taches blanches; la coupe microscopique dénote la présence des mêmes taches blanches.

6° Les reins sont hypertrophiés; il en est de même pour les capsules surrénales.

7° Organes génito-urinaires normaux.

8° Les urines sont louches et renferment une très notable quantité d'albumine avec (Tanret et NO^3H).

Les ganglions recueillis aseptiquement et réduits en pulpe entre deux lames sont examinés par la méthode de Ziehl-Neelsen ainsi que la matière blanche caséifiée trouvée sur le foie.

Le Bacille de Koch a été caractérisé dans les ganglions inguinaux et mésentériques. Il se présente isolé en forme longue avec granulations, le protoplasme montre des parties claires réfractaires au colorant.

Le foie, les reins, les poumons et les capsules surrénales offrent à l'examen histologique une structure tuberculeuse. La coloration des coupes par la méthode de Ziehl, lacto-bleu (1) permet de déceler la présence de Bacilles de Koch granuleux dans l'intérieur des tissus.

Conclusion : Le Bacille de Koch peut vivre sur le papier monnaie et y conserver sa virulence. Il se retrouve très bien expérimentalement par la méthode de l'inoculation après cinq jours.

On peut donc admettre que le papier infecté, aussi bien expérimentalement qu'accidentellement, en particulier par un sujet tuberculeux (doigts mouillés de salive, contact du mouchoir, etc.), est capable de devenir à son tour en passant de mains en mains une source de contamination redoutable.



(1) N. B. — Méthode de Ziehl lacto-bleu. Coloration par le Ziehl chaud décoloration et recoloration simultanées par solution saturée de bleu de méthylène dans alcool à 95° avec acide lactique. *Presse Médicale*, 1920, n° 73.

CHAPITRE IV

Le Papier Monnaie & l'Hygiène

Nos expériences montrent qu'une foule de bactéries, moisissures, champignons, etc., et parmi ces micro-organismes, certaines formes hautement pathogènes, sont capables d'infester le papier monnaie et de s'y maintenir un temps suffisant pour permettre la contagion. A ce point de vue nos travaux confirment pleinement ceux de nos devanciers et montrent une fois de plus les dangers qu'offrent ces papiers pour la santé publique.

Les résultats exprimés par les expériences nous indiquent, en effet, les possibilités d'infection. Pour notre part nous avons surtout mis en lumière les rapports qui existent entre la flore du papier monnaie et celles de la bouche, de l'intestin et de la peau. On sait l'importance de la voie buccale en partie dans l'étiologie des maladies transmissibles. Nous ne connaissons qu'une partie des micro-organismes qui entrent en activité dans ces maladies. Nous savons qu'en dehors de la période aiguë de la maladie, les germes peuvent se maintenir un temps très long dans la cavité bucco-pharyngée chez certains sujets. Ces porteurs de germes jouent un rôle dangereux pour la contagion ; ce rôle a été mis en évidence pour la Diphtérie, la Méningite cérébro-spinale etc., toutes maladies dans lesquelles les bacilles se localisent un temps très long dans la même cavité. Le hasard des circonstances peut seul permettre au bactériologiste de surprendre l'infection du papier monnaie par ces bac-

téries, mais la présence des représentants ordinaires de la flore buccale nous en montre la possibilité. D'autres maladies dont les germes sont pour la plupart inconnus, rougeole, scarlatine, grippe, etc., empruntent aussi la voie buccale pour pénétrer dans l'organisme.

La présence très nette du Coli bacille, hôte de l'intestin, indique à son tour les possibilités d'infection par des germes venus de cette région du tube digestif. Il suffira d'indiquer la fièvre typhoïde, les dysenteries, et tous germes capables de contaminer le papier monnaie par l'intermédiaire de personnes peu soucieuses de la propreté de leurs mains.

Nul doute qu'il en soit de même pour certaines affections cutanées.

Nous pouvons rapprocher nos résultats, tout en tenant compte cependant, des différences de milieux dans lesquels ont été faites les expériences, des recherches bactériologiques de Vincent sur les pièces de monnaie (1).

L'auteur conclut, que tous les microbes peuvent s'y rencontrer, mais les plus fréquents sont ceux de la suppuration. Un cas de contamination syphilitique par ce moyen, a été rapporté par Duncan Bulkle.

Les microbes déposés sur les pièces de monnaie n'y ont qu'une vie éphémère. Le contact des métaux possède une action antiseptique d'autant plus efficace que la température ambiante est plus élevée. Les pièces d'or possèdent une action antiseptique moindre que celle des pièces de billon et d'argent. Le bacille Typhique y vit pendant cinq à sept jours alors qu'il meurt en moins de dix-huit heures sur les autres pièces.

Au point de vue hygiénique, les simples sous sont donc bien préférables aux pièces de vingt francs.

Notons les différences de vitalité qu'offrent les microbes sur-

(1) *Annales d'Hygiène publique et de Médecine légale*, Juillet 1895, tome 34, page 383.

vant le milieu dans lequel ils se trouvent placés. Les pièces de métal, comme le fait observer très judicieusement Vincent, ont une action antiseptique qui entrave le développement des microorganismes.

Dans les deux cas, aussi bien sur le papier monnaie que sur la monnaie de métal, se trouvent sensiblement les mêmes espèces microbiennes. Cependant celles-ci sont beaucoup plus nombreuses sur le papier que sur le métal.

En résumé, les espèces que l'on isole sur le papier monnaie sont intéressantes non pas seulement par leur valeur propre mais encore par leur signification d'indicateurs d'infection. Elles légitiment les craintes qu'elles inspirent aux hygiénistes et les appels faits par ceux-ci aux divers représentants des pouvoirs compétents.

Notre conclusion ne peut être que celle émise maintes fois par les bureaux d'hygiène : obtenir de ceux qui manipulent journellement le papier monnaie une hygiène aussi parfaite que possible des mains ; en aucune façon n'avoir recours à la salive pour coller ou compter les billets ; ne jamais porter ces papiers aux lèvres, enfin demander le remplacement des coupures malpropres ou déchirées, par des émissions nouvelles en attendant leur retrait définitif, retrait que nous désirons prochain pour le bien de tous.

CONCLUSIONS

I

Il résulte de nos recherches :

A. — De nombreuses espèces microbiennes souillent le papier monnaie.

B. — L'analyse quantitative nous indique que sur milieu gélatine un centimètre carré de billet représente 2.000 colonies microbiennes; et sur milieu gélose un centimètre carré de billet représente 1.800 colonies microbiennes.

Une coupure de un franc de dimension moyenne représente donc environ 150.000 colonies microbiennes.

C. — L'analyse qualitative nous a permis de caractériser :

1° Des bactéries saprophytes :

Micrococcus Prodigiosus Ehrenberg.

Bacillus Subtilis Ehrenberg.

Bacilles du type *Megaterium* de Bary.

Bacilles du type *Mesentericus* Flugge.

Bacilles du type *Proteus* Hauser.

2° Des bactéries pathogènes :

Staphylococcus pyogenes aureus Rosenbach.

Staphylococcus pyogenes albus Rosenbach.

Staphylococcus pyogenes citreus Passet.

Micrococcus Tetragnus Gaffky.

Eléments du type *Leptothrix buccalis* Ch. Robin.

Eléments du type *Leptothrix asteroïde* J. Mendel.

Bacillus Coli communis Escherisch.

C'est-à-dire les représentants des flores : cutanée, buccale et intestinale.

3° Des moisissures appartenant aux genres :

Aspergillus Micheli 1729.

Penicillium Link 1809.

Gladosporium.

Mucor Micheli 1729.

Ces genres renferment tous des espèces pathogènes pour l'homme.

4° Bien que nous n'ayons pu trouver, nos recherches ayant été peu nombreuses, le *Bacillus Tuberculosis* Koch, le *Bacillus Diphtheriae* Loeffler et de *Micrococcus Pasteuri* Sternberg, nous n'écarterons pas les possibilités de présence de ces microbes.

5° A noter la présence quasi certaine des espèces appartenant aux genres : *Spirillum* Ehrenberg et *Spirochaeta* Ehrenberg.

II

L'examen chimique de l'enduit qui revêt le papier nous révèle :

1° La présence de :

a Matières grasses.

b Matières réductrices.

c Matières albuminoïdes.

d Sels minéraux.

e Sels ammoniacaux.

f La chaux, du fer, de l'alumine, de la silice.

2° La composition de l'enduit rappelle celle d'un milieu de culture.

3° Le billet est conservé pour la plupart du temps à l'abri de la lumière et dans des conditions de températures favorables au développement des germes.

III

Le papier monnaie souillé expérimentalement par des bactéries saprophytes et pathogènes nous montre que les unes et

les autres peuvent conserver leur vitalité dans ce milieu un temps plus ou moins long, variable avec l'espèce.

Nous avons trouvé :

- 1^o Bacille Prodigiosus vivant pendant 20 jours.
- 2^o Staphylocoque, vivant pendant 45 jours.
- 3^o Coli bacille vivant pendant 20 jours.
- 4^o Bacille d'Eberth, vivant pendant 8 jours.
- 5^o Bacille du Charbon sporulé, vivant pendant 60 jours.
- 6^o Le Bacille de la Tuberculose était vivant le cinquième jour, nous ne l'avons pas trouvé le quinzième jour.

IV

Hygiène. Nous pouvons confirmer, une fois de plus, les craintes qu'inspire aux hygiénistes pour la santé publique l'emploi intensif de papier monnaie et nous joindre à eux pour demander une solution conforme à l'hygiène aussi prompte que possible.

Vu bon à imprimer :
Le Président de Thèse,
Dr H. MANDOUL.

Vu : *Le Doyen,*
Dr C. SIGALAS.

Vu et permis d'imprimer :
Bordeaux, le 9 juillet 1921.
Le Recteur de l'Académie,
R. THAMIN.

BIBLIOGRAPHIE

- AGASSE-LAFONT. — Les Appl. prat. du Lab. à la clinique. Vigot frères, éditeurs, Paris 1920.
- BERTIN ET CARRIEU. — Prophyl. Maladies transmissibles, Masson, édit., Paris 1920.
- BEZANÇON. — Précis de Microbiologie clinique. Masson, éditeur, Paris 1920.
- BRUMPT. — Précis de Parasitologie. Masson, éditeur, Paris 1910.
- COURMONT. — Précis de Bactériologie pratique. O. Douin, éditeur, Paris 1897.
- CHARPENTIER. — Les Microbes. Vuibert et Nony, éditeurs, Paris 1909.
- DOPTER ET SACQUÉPÉE. — Bactériologie. Baillière, éditeur, Paris 1921.
- DENIGÈS. — Chimie analytique. Maloine, éditeur, Paris 1907.
- DENIGÈS. — Sur la Rech. de l'indol par le réact. de Legal. Bull. Soc. pharm. de Bord. Janv. 1908.
- DURAND. — Bactéries et Papiers monnaie. Bull. sciences pharmacologiques, numéro 7, 1920.
- FIESSINGER. — Le diagnos. Biolog. en clientèle. Maloine, éditeurs, Paris 1918.
- GIRARD. — Rech. bact. sur la flore du papier monnaie. Bull. Soc. pharm. de Bordeaux, numéro 3, 1920.
- GUIART. — Parasitologie. Baillière, édit. Paris 1910.
- LE ROY. — Exam. chim. des bons divis. usagés. Anal. des Fals. Octobre 1916.
- MENDEL JOSEPH. — Leptothrix astéroïde. Bull. Soc. Biol. Mai 1908.
- MACÉ. — Traité prat. de Bactériologie, Baillière, édit. Paris 1901.
- MACÉ. — Atlas de Microbiologie. Baillière, édit. Paris 1898.
- MIQUEL. — Man. Prat. anal. bact. des eaux, Baillière, éditeur, Paris 1891.
- ROUX. — Précis anal. Microb. des eaux, Baillière, édit. Paris 1892.
- RAMOND. — Infections Parasitaires. Maloine, édit. Paris 1921.

- SARTORY. — Manip. de Mycologie parasitaire. Le François, édit., Paris.
- SÉE. — La Florule du papier. Jour. pharm. et de chimie, numéro 20, 1919, 7^e série.
- SÉE. — Thèse Doctorat ès-sciences nat., Paris 1919.
- SERGENT. — Tableau synop. de bact. Baillière, édit. Paris 1920.
- SIGALAS ET GIRARD. — La Flore du Papier monnaie. Bull. Soc. pharm. de Bordeaux, numéro 4, 1920.
- SIGALAS ET GIRARD. — Etudes expérim. sur la rech. du bac. tuberculeux. Bull. Soc. pharm. de Bordeaux, numéro 1, 1921.
- TRABUT. — Botanique médicale. Masson, édit. Paris 1898.
- VERDUN. — Précis de Parasitologie humaine. O. Douin, éditeur, Paris 1907.

